

**Aus dem
Institut für Bakteriologie und Mykologie
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig**

**Reagentenselektion - eine mögliche Strategie zur Bekämpfung
der Progressiven Rhinitis atrophicans (PRa)
in einem geschlossenen Schweinebestand
unter der Berücksichtigung
der Dynamik und der Nachweismethoden
toxinogener Pasteurella multocida**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. vet. med.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig**

**eingereicht von
Bodo Thom
aus Neubrandenburg**

Leipzig, 2010

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Arwid Dauschies

Betreuer: Prof. Dr. Monika Krüger

Gutachter: Prof. Dr. Monika Krüger,
Institut für Bakteriologie und Mykologie
der Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

PD Dr. habil. Friedrich Schmoll,
Institut für Öffentliches Veterinärwesen
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Tag der Verteidigung: 10. November 2009

Inhalt

	Seite
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	I
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Klinische Symptomatik der Progressiven Rhinitis atrophicans	3
2.2 Pathomorphologie	4
2.3 Historische Entwicklung der Vorstellungen über die Ätiologie und Pathogenese der Progressiven Rhinitis atrophicans	6
2.4 Ätiologie	7
2.5 Pathogenese	9
2.6 Immunologie	11
2.7 Epizootiologie	13
2.8 Wirtschaftliche Schäden	15
2.9 Diagnostik	17
2.9.1 Klinische Diagnostik	17
2.9.2 Pathomorphologische Diagnostik	18
2.9.3 Kultur, Charakterisierung und Differenzierung von <i>Pasteurella multocida</i>	19
2.9.4 Nachweis des Toxinbildungsvermögens	25
2.10 Bekämpfung	30
2.10.1 Medikamentöse Behandlung	30
2.10.2 Prophylaxe	32
2.10.3 Sanierung / Tilgung / Eradikation	35
2.10.4 Bekämpfungsprogramme	39
3 Eigene Untersuchungen	43
3.1 Material und Methoden	43
3.1.1 Kriterien zur Auswahl eines Bestandes für die Sanierung durch Reagentenselektion	43
3.1.2 Beschreibung des Versuchsbestandes	44
3.1.3 Phasen des Sanierungsversuchs	52
3.1.4 Diagnostik	57
3.1.5 Separation und Behandlung der Reagenten	66
3.2 Ergebnisse	69
3.2.1 Phase I - Statuserhebung	69
3.2.2 Phase II - Gruppenweise Untersuchungen im ELISA	71
3.2.3 Phase III - Gesamtbestandsweise Untersuchungen in der PCR	75
3.2.4 Phase IV - Kontrolle und Überwachung	79
4 Diskussion	83
4.1 Ausgangssituation im Versuchsbestand (Klinik und Infektionsstatus)	83
4.2 Auswahl des Bekämpfungsweges	84
4.3 Schwerpunkte der Diagnostik	85
4.4 Verteilung identifizierter Keimträger im Bestand	87

4.5	Diagnostische Grenzen des Verfahrens in den Phasen I und II	88
4.6	Einflussfaktoren auf die Infektionsdynamik im Bestand	90
4.7	Wert und Ergebnisse serologischer Untersuchungen im Sanierungsverfahren	91
4.8	Verfahrensoptimierung der Sanierungsbemühungen in der Phase III	92
4.9	Wirtschaftliche Aspekte des gewählten Bekämpfungsweges	94
4.10	Verfahren mit identifizierten Reagenten und epizootiologische Aspekte	95
4.11	Kontrolle des Sanierungserfolgs, Bestandsüberwachung und diagnostische Probleme	96
5	Schlussfolgerungen	98
6	Zusammenfassung	101
7	Summary	103
8	Literaturverzeichnis	105
9	Anhang	122
9.1	Verzeichnis der Tabellen	122
9.2	Verzeichnis der Abbildungen	123
9.3	Programm zur Bekämpfung der der Schnüffelkrankheit (Rhinitis atrophicans, R. a.) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern	124
9.4	Verpflichtungserklärung (R. a.)	127
9.5	Muster einer aktualisierten Befundzusammenstellung	129
9.6	Programm zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Progressive Rhinitis atrophicans, PRa) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern 2001	130
9.7	Verpflichtungserklärung (PRa)	133
9.8	Muster einer Bestätigung der PRa-Unverdächtigkeit	135
9.9	Grundrisse der einzelnen Ställe der Zucht- und der Mastanlage	136

I Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AmtsBl. M-V	Amtsblatt für Mecklenburg-Vorpommern
Aqua dest.	destilliertes Wasser
Bb	Bordetella bronchiseptica
bp	basic pairs (Basenpaare)
bzw.	beziehungsweise
ca.	zirka
CTC	Chlortetracyclin
DL	Deutsche Landrasse
DM	Deutsche Mark
DML _{Maus}	Dosis minimalis letalis (minimale letale Dosis) für Mäuse
DNA	desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
DNT	dermonekrotisches Toxin
DVG	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft
EIA	Enzym immuno assay
ELISA	Enzym linked immunosorbent assay
EMEM	Eagle's minimal essentielles Medium
EP	Enzootische Pneumonie
ep REP-PCR	extragenetische palindromische (REP ↓) Sequenz-PCR
et al.	et alii (und andere)
e. V.	eingetragener Verein
F ₁	1. Tochtergeneration
ggf.	gegebenenfalls
FHI	fraktioneller Hemmstoffkonzentrationsindex
HE	Hämatoxylin-Eosin(-Färbung)
HSZV	Hybridschweinezuchtverband
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
kb	Kilo-Basen, Anzahl der Basen x 1000
KBE	Kolonien bildende Einheiten
KSP	Klassische Schweinepest
Kunstst.	Kunststoff
Kunststoffwä.	Kunststoffwände
LD ₅₀	Dosis letalis media; Dosis, bei der 50 % der Individuen sterben
LVL M-V	Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern
MDa	Megadalton
MELFF M-V	Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft, Forsten und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern
MEW	medicated early weaning (medikiertes Frühabsetzen)
MHK	minimale Hemmstoffkonzentration
Nds. MBl.	Niedersächsisches Ministerialblatt
Nr.	Nummer
OD	optische Dichte
OPD	O-Phenylenediaminedihydrochloride

OTC	Oxytetracyclin
PAS	Periodic-acid-Schiff(-Färbung): Perjodsäure-fuchsin-schweflige Säure (= Schiff's Reagens)-Färbung
PBS	phosphate-buffered saline solution (Phosphat gepufferte Salinelösung)
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PGE	Pulsfeld-Gel-Elektrophorese
Pm	Pasteurella multocida(-Stämme)
PMSG	pregnant mare serum gonadotrophin (Gonadotropin aus dem Serum tragender Stuten)
Pmt	toxinogene (= Toxin bildende) Pasteurella multocida(-Stämme)
PRa	Progressive Rhinitis atrophicans
PRRS(V)	Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom (-Virus)
Ra	Rhinitis atrophicans
REA	Restriktive Endonuklease-Analyse
rDNA	ribosomale DNA (↑)
REP-PCR	repeated PCR (wiederholte PCR)
S.	Seite
SchHaltHygV	Schweinehaltungshygieneverordnung
SGD	Schweinegesundheitsdienst
SPF	specific pathogen free (spezifisch Pathogen frei)
spp.	Spezies, verschiedene Arten
subspez.	Subspezies
Tab.	Tabelle
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
u.	und
u. a.	unter anderem, unter anderen
u. U.	unter Umständen
z. B.	zum Beispiel
Ø	Durchmesser
°C	Grad Celsius
%	Prozent
↑	siehe oben
↓	siehe unten

Bedeutung der Progressiven Rhinitis atrophicans

Die Rhinitis atrophicans (Ra) wurde schon 1830 von Franque beschrieben (SEIFERT 1970, DONE 1985, IBEN 2005). Trotzdem stellt sie, jetzt korrekter als Progressive Rhinitis atrophicans (PRa - siehe 2.3) (DE JONG u. NIELSEN 1990) bezeichnet, noch heute, unter den Bedingungen einer modernen, intensiven landwirtschaftlichen Produktion, eine der bedeutsamsten Infektionskrankheiten des Schweines dar. Die Schwierigkeit ihrer Beherrschung bis in die Gegenwart ist vor allem darauf zurückzuführen, dass noch in den 80er Jahren des vergangenen Jahrhunderts keine Einigkeit über die Ätiologie der Erkrankung zu erzielen war (SCHÖSS 2001, IBEN 2005). Erst in den letzten 25 Jahren wurde die ursächliche Rolle toxinogener Stämme von *Pasteurella multocida* (Pmt) für die Herausbildung eines progressiven, irreversiblen Krankheitsbildes allgemein anerkannt. Damit wurde der Befall einer Herde oder eines Schweinebestandes nicht mehr anhand der augenblicklichen klinischen Situation, sondern über die Potenz der Ausprägung und der Ausbreitung auf andere Populationen neu definiert: Nur bei nachgewiesener Beteiligung der Pmt bezeichnet man heute das beobachtete Krankheitsbild als PRa (BOLLWAHN 1988, PEDERSEN et al. 1988, DE JONG u. NIELSEN 1990).

Außerdem vollzog sich ein Wandel der durch Bestandsinfektionen mit Pmt verursachten wirtschaftlichen Schäden: In den zurückliegenden Jahrzehnten waren diese vor allem durch kontinuierliche oder sporadische klinische Erscheinungen der Erkrankung mit zum Teil schweren Einbußen tierischer Leistungen gekennzeichnet (SCHÖSS 1966). LIESCHKE et al. (1989) beschrieben bei hochgradig ausgeprägten Nasenmuschelatrophen Minderungen der Schlachtkörpermasse und Beeinträchtigungen des Schlachtwertes. Trotz der Zurückdrängung dieser direkten Verluste durch optimierte Haltungs- und Umweltbedingungen, effizientere Antiinfektiva und neue Impfstoffe in enzootisch befallenen Herden entstehen den Produzenten heute aufgrund von Handelsbeschränkungen, Preissanktionen und Regressansprüchen erhebliche wirtschaftliche Nachteile (BOLLWAHN 1988, DE JONG 2002).

Zielstellung des Versuches

Für eine infektiöse Ursache der Erkrankung gab es seit Längerem deutliche Hinweise, ohne dass der oder die beteiligten Erreger zweifelsfrei identifiziert werden konnten. Deshalb galt nach dem Auftreten klinischer Symptome über Jahrzehnte der Gesamtbestandsaustausch und der Neuaufbau aus sicher nicht infizierten, da langfristig und kontinuierlich klinisch überwachten Herden als der einzig Erfolg versprechende Weg, Krankheitsausbrüche zu verhindern (SCHÖSS et al. 1980). Auch nach der Klärung der Ätiologie wurden der alternativen Selektion nachweislich und potenziell infizierter Tiere auf der Basis bakteriologischer und serologischer Untersuchungen wegen der diagnostischen Probleme nur begrenzte Aussichten zugebilligt. Die wenigen in der Literatur beschriebenen Sanierungsversuche auf diesem Weg wurden überwiegend in kleinen, manchmal akut infizierten Herden unternommen und waren meist mit betriebsorganisatorischen, antiinfektiven und immunprophylaktischen Maßnahmen kombiniert.

Ziel des eigenen Versuches, einer prospektiven, longitudinalen Beobachtungsstudie, war es, die Pmt aus einer seit Jahren latent infizierten, geschlossenen, sich selbst reproduzierenden Zuchtherde mit ca. 500 Sauen an einem Standort allein durch die Selektion der Keimträger zu eliminieren. Dazu wurden

1 Einleitung

bei laufender Produktion weder ein Frühabsetzen der Ferkel, noch eine gezielte Medikation der Nachzucht oder eine Medikation bzw. Vakzinierung der erwachsenen Zuchttiere praktiziert.

In seinen röntgenologischen Untersuchungen und statistischen Erhebungen an einem sehr umfangreichen Tiermaterial wies SEIFERT (1970) eine genetisch polyfaktoriell determinierte Disposition der klinischen Merkmalsausprägung der Ra, allerdings ohne eine Analyse der Infektionsverhältnisse fakultativ und obligat pathogener Erreger, nach. Auch in dem hier beschriebenen Versuch wurden anfangs zeitgleich nachweislich infizierte Schweine und Tiere, bei denen sich weder Pmt, noch ein früherer Kontakt durch das Auffinden gegen Pmt gerichteter Antitoxine diagnostizieren ließen, in einem Bestand vorgefunden. Diese Tatsache könnte u. a. auf eine variierende Empfänglichkeit der Einzelindividuen der Population, möglicherweise auf eine hereditäre Disposition einzelner Linien innerhalb einer Rasse, hinweisen. Durch die fortgeführte Selektion der erkannten Keim- und Antitoxinträger aus dem Bestand würde sich im dargestellten Fall der Anteil genetisch prädisponierter Tiere kontinuierlich reduzieren, wodurch sich die Dynamik der Erregerausbreitung gleichsam verringern könnte.

2 Literaturübersicht

2.1 Klinische Symptomatik der Rhinitis atrophicans

Die Erkrankung erhielt ihre deutsche Bezeichnung „Schnüffelkrankheit“ aufgrund ihres eindrucksvollen klinischen Erscheinungsbildes: In schweren, fortgeschrittenen Fällen ist beim Ein- und Ausatmen der Tiere ein deutliches „Schnüffel“-geräusch zu vernehmen. Dieses entsteht durch die teils hochgradigen Deformationen der Kopfknochen (SCHÖSS 1966). Die Auftreibung oder die laterale bzw. dorsoventrale Verbiegung der Nase und / oder eine Verkürzung des Oberkiefers (Brachygnathia superior) (RUTTER u. ROJAS 1982) sind charakteristische Symptome. In einigen Fällen werden Querfalten der Haut auf dem Nasenrücken beobachtet. Die Atmung und die Futteraufnahme schwer betroffener Tiere sind stark beeinträchtigt, ihre Lebendmasseentwicklung ist gehemmt. Die Futterverwertung kann verringert sein (SCHÖSS 1966).

Bei klinischen und pathologischen Studien an mehr als 2000 Köpfen von an der Ra erkrankten Schweinen aus 2 Herden in der 8. Lebenswoche waren in 95 % der Fälle die Nasenknochen deformiert und 92 % der Oberkiefer verkürzt (BERCOVICH u. DE JONG 1976). BONG et al. (1992) fanden bei einer Untersuchung von 14 Beständen durchschnittlich mehr als 10 % der Tiere im Alter zwischen 12 und 14 Wochen vor, die eine auffällige Oberkieferverkürzung, eine laterale Verbiegung der Nase und / oder eine frequente Epistaxis ausgeprägt hatten. GILES et al. (1980) registrierten die genannten klinischen Erscheinungen in 5 von 13 Herden Sünglands. Bei einem Anteil der Läufer von bis zu 15 % je Herde waren diese frühestens mit 8, zumeist bis zu einem Alter von 12 - 14 Lebenswochen ausgeprägt.

Das häufigste Symptom der Erkrankung aber ist das Niesen. Es setzt oft schon in der 2. Lebenswoche der Ferkel ein und hält bis in die Aufzucht- oder Mastphase an (GOIS et al. 1983a, DOUGLAS u. RIPLEY 1984, DONE 1985). Prusten, schmutzige Sekretbahnen in den medialen Augenwinkeln, die durch den vermehrten Tränenfluss infolge einer Verlegung des Canalis lacrimalis entstehen, seröser, später mucopurulenter Nasenausfluss, möglicherweise Blutbeimengungen oder eine spontan auftretende Epistaxis (SCHÖSS 1966, GILES et al. 1980, RUTTER u. ROJAS 1982, IKOMA 1994, HEER et al. 1995) sind zu beobachten. Parallel zu den Veränderungen der PRa entwickeln sich nicht selten auch Erkrankungen der unteren Atemwege und der Lungen (LIESCHKE et al. 1989, BLAHA 1993). So husten betroffene Tiere teils intensiv (GILES et al. 1980, IKOMA 1994, HEER et al. 1995). Da viele Faktoren das Niesen bei Ferkeln und Absetzläufern verursachen können, wird es von den Landwirten oft subjektiv interpretiert. Ein Vergleich zweier Läuferpartien aber, deren Mütter mit verschiedenen Impfstoffen gegen die Ra (Gruppe 1: Bordetella bronchiseptica-Monovakzine, Gruppe 2: Bordetella bronchiseptica- / Pasteurella multocida-Kombinationsimpfstoff) vakziniert worden waren, zeigte zählbare, signifikante Unterschiede von 0,154 (Gruppe 1) bzw. 0,078 (Gruppe 2) Mal Niesen pro Ferkel und Minute (DOUGLAS u. RIPLEY 1984).

Ein Wurf aus einer Herde mit verschiedenen Symptomen der PRa erschien zunächst klinisch unauffällig (JOLIE et al. 1990). Erst in einem Alter von 7 Wochen setzten Schnupfen und eine intermittierende Epistaxis ein. Diese mündeten letztlich in Nasendeformationen und Wachstumsverzögerungen. Wie computertomographische Aufnahmen zeigten, lagen bereits seit der 3. Lebenswoche ausgeprägte pathomorphologische Veränderungen vor.

In Würfen ungeimpfter Mütter bemerkten UDOVIČIĆ et al. (1996) schon mit 7 Tagen das Niesen der Ferkel und mit 14 Tagen die beginnenden, auf die PRa hindeutenden Deformationen. Die Läufer

waren von Niesen, frequentem Schnupfen und Schnüffeln, serösem Nasenausfluss, Tränenfluss und Epistaxis, wie auch von Deformationen der Gesichtsknochen mit Brachygnathie betroffen. Im Vergleich der Würfe geimpfter und ungeimpfter Jungsauen (FOGED et al. 1989) blieben von denen ersterer 90 % der Ferkel bis zur 8. Lebenswoche gesund, während in den Letzteren nur 28 % keine verkürzten oder deformierten Oberkiefer ausprägten. Die Lebendmassezunahmen beider Gruppen unterschieden sich um 4 - 8 %.

Ferkel von Müttern mit einem minimal disease-free-Status, die in Beständen mit klinischen Erscheinungen der PRA geboren und aufgezogen wurden, waren mit 6 Wochen erkrankt (BERCOVICH 1978). Von DE JONG u. AKKERMANS (1986) wurden isoliert gehaltene SPF-Ferkel in verschiedenem Alter experimentell mit *Bordetella bronchiseptica* (Bb) oder *Pasteurella multocida* (Pm) infiziert. Bei einem Infektionsalter bis zur 6. Woche traten klinische Symptome innerhalb der darauf folgenden 4 Wochen auf. Bei DIRKS et al. (1973) setzte das Niesen ca. 14 Tage nach der experimentellen Infektion gesunder Ferkel von Sauen aus Ra unverdächtigen Herden mit Pm-Reinkulturen am 3. bis 7. Lebenstag ein und hielt bis zum Versuchsende nach ca. 3 Monaten an. Im Rahmen eines Infektions- und Immunisierungsversuchs applizierten PEDERSEN u. BARFOD (1982) Bb und toxinogene Pm bei Ferkeln intranasal. Sowohl die Ferkel geimpfter, als auch die ungeimpfter Sauen reagierten mit deutlichen klinischen Erscheinungen und einer verringerten Lebendmassezunahme. Diese wurden bei Ferkeln, die mit Bb, zusätzlich aber mit nicht toxinogenen Stämmen von Pm infiziert waren, nicht registriert. Gesunde Börgе, die mit ca. 122 Tagen und 83 kg Lebendmasse aus einem PRA freien Bestand in eine Herde mit deutlichen PRA-Symptomen eingestallt wurden, zeigten schwere klinische Erscheinungen wie Niesen, Husten und eine halbierte Masttatzunahme (GLATTLEIDER et al. 1996).

Nach dem zeitgleichen Eintrag der PRA in 6 Läuferproduktionsbestände durch den Tierzukauf aus einem Jungsauenlieferbetrieb traten die ersten verdächtigen Erscheinungen nach 7, deutliche Symptome nach 9 - 12 Monaten auf (MATSCHULLAT et al. 1994). In einem anderen Fall wurde die PRA in 13 Empfängerbeständen eines Jungsauenlieferanten klinisch manifest, ohne dass in der Herkunftsherde selbst Symptome erkennbar waren.

Form und Intensität der Ausprägung sowie der (zeitliche) Verlauf der Erkrankung können sich, abhängig von inneren und äußeren Bedingungen, zwischen befallenen Herden und in einem Bestand sehr unterschiedlich darstellen (SCHÖSS 1966, BALLINGER 1992).

2.2 Pathomorphologie

Die bezeichnende Veränderung der Erkrankung ist die degenerative Atrophie der Conchae nasales (PEDERSEN et al. 1988, MARTINEAU-DOIZÉ et al. 1990a, b, DE JONG 1993) verschiedener Grade. Zuerst sind meist (asymmetrisch) nur die ventralen Nasenmuscheln und / oder das Septum nasi durch seine laterale Verbiegung betroffen. In der Mehrzahl der Einzeltiere werden die dorsalen Konchen erst bei hochdosiertem Einwirken des auslösenden Agens und weiterem Fortschreiten der Krankheit in die atrophischen Prozesse integriert (VAN DIEMEN et al. 1992a). In schweren Fällen können auch die äußeren, die Nasenhöhle begrenzenden Knochen des Kopfes geschädigt sein. DONE (1985) charakterisiert die Krankheit als eine Deformation der Kopfknochen, die von respiratorischer Schleimhaut überzogen sind, mit einem knock out-Effekt der stützenden Strukturen. Dieser kann auch zu einer Unterentwicklung der Backenzähne und zur Faltenbildung der Haut über der Nase führen. In

subklinischen Fällen bestimmt der Grad der Rückbildungen das Maß der eingetretenen Schäden (VAN DIEMEN et al. 1992a). BERCOVICH u. DE JONG (1976) ermittelten eine hohe positive Korrelation zwischen der Verkürzung des Oberkiefers und dem Grad der Nasenmuschelatrophy.

DUNCAN et al. (1966), GOIS et al. (1983b), MAGYAR et al. (1988), LIU u. PENG (1990) und BARTUSSEK et al. (2001) beschrieben weitestgehend übereinstimmend die folgenden, histologisch erkennbaren Reaktionen einer beginnenden Konchenatrophy:

- variable Metaplasien bzw. milde bis mittlere Hyperplasien des respiratorischen Epithels
- nekrobiotische Veränderungen in Epithel- und Drüsenzellen, erhöhter Anteil an Makrophagen, verstreute neutrophile Granulozyten, intraepitheliale Mikroabszesse, oft in der Nähe der Drüsenausführungsgänge
- Deziliation und Entzündungen in Form squamöser Metaplasien der Mucosa propria mit Störungen der mukoperiostalen Aktivität
- Kämme, Fugen, Vorsprünge des Knochenmarks als Zeichen des Knochenumbaus
- dünnes Periost in diesen Flächen mit fokal aktiven Flächen der Differenzierung des Knochengewebes, in manchen Fällen feines und nicht komplettes Knochenmark
- bei Einzeltieren kollabiertes Knochenmark der ventralen Nasenmuschel, so dass Drüsen und vaskuläre Elemente der Lamina propria im Mark erscheinen
- Osteoblastenzellen mit zytotoxischen Veränderungen

Im Jahre 1989 untersuchten LIESCHKE et al. 2643 Mastschweine aus 25 Haltungsdurchgängen eines Großbetriebes. Bei 70 % der Schlachttiere fanden sie Veränderungen der Conchae nasales und / oder des Septums durch die Ra vor. Von diesen waren 12 % mittelgradig und 7,5 % hochgradig ausgeprägt. Bei der Beurteilung von 3847 Schweinen aus 13 Mastbeständen der Bundesländer Sachsen-Anhalt, Brandenburg und Thüringen wurden ebenfalls in 64,8 % der Fälle Ra-Veränderungen beobachtet, wobei ausnahmslos alle Betriebe betroffen waren (LIESCHKE et al. 1991). Signifikante Unterschiede traten dabei zwischen den einzelnen Beständen hinsichtlich des Vorkommens und der Ausprägung der Krankheit auf: Die Morbidität variierte zwischen 32,0 und 87,1 %, der Anteil mittel- und hochgradiger Veränderungen zwischen 0 und 48 %.

Bei ihren Erhebungen an 844 Schlachtschweinen aus 86 südeuropäischen Herden registrierten CAMERON et al. (1980) 75 % der Tiere ohne oder mit leichten, 15 % der Tiere mit mittelgradigen und 10 % der Tiere mit schweren Konchenschäden. In 64 % der Herden fanden sie keine oder nur geringgradige, in 26 % der Herden bei weniger als der Hälfte und in 10 % Herden bei mehr als der Hälfte der geschlachteten Tiere die charakteristischen pathologischen Veränderungen vor. Während des von ihnen beschriebenen klinischen Ausbruchs in einer Herde mit 220 Sauen bestimmten MARTELLI et al. (1994) den Anteil der Tiere mit verschiedenen Graden der Konchenatrophy bei 15 - 18 Wochen alten Läufern mit 22,7 %. Obwohl sich die Erkrankung in mehreren Empfängerbeständen eines Jungsaunenlieferanten bereits klinisch und pathomorphologisch manifestiert hatte, konnten in der Herkunftsherde selbst nur bei 1 von 73 gezielt pathologisch untersuchten Läufern verdächtige Veränderungen festgestellt werden (MATSCHULLAT et al. 1994).

Durch ihre experimentellen Infektionen von Ferkeln mit Pmt lösten DE JONG u. AKKERMANS (1986) die für die PRa beschriebenen Atrophien ventraler Konchen bis zur 6. Lebenswoche aus (siehe auch 2.1). Die Provokation leichter Konchen- und die von Septumdeformationen gelangen noch mit Infektionen bis zur 16. Lebenswoche.

Beim Vergleich der Ferkel mit Pmt-Toxoid geimpfter (Gruppe 1) mit denen ungeimpfter (Gruppe 2) Jungsauen (FOGED et al. 1989) entwickelten sich in der Gruppe 1 bei 11 % und in der Gruppe 2 bei 81 % der Tiere schwere Atrophien der Nasenmuscheln. GLAWISCHNIG et al. (1992) konnten durch immunprophylaktische Maßnahmen den Anteil von Läufern mit schweren Konchenveränderungen, IKOMA (1994) mit gezielter antiinfektiver Metaphylaxe das durchschnittliche pathologische Schadensmaß der Nasen in den jeweiligen Herden halbieren. Zur Gegenüberstellung der Wirksamkeit zweier unterschiedlich konzipierter Vakzinen gegen Pmt ermittelten BORDING et al. (1992) Anteile von Tieren aus 5 Betrieben, die von mittel- und hochgradigen Konchenatrophien betroffen waren, von 55,5 (43 - 73) % bzw. 28,6 (6 - 44) %. Nach der Vakzination von Sauen und Ferkeln mit einem Lebendimpfstoff gegen Bb reduzierte sich der Anteil hochgradiger Veränderungen der Conchae nasales von 21,7 % (n = 900) auf schließlich 3,2 % (n = 3600) (EHSER et al. 1993).

VAN AKEN et al. (1992) registrierten signifikant geringere Geburtsgewichte für Ferkel, die später schwere pathomorphologische Erscheinungen der Ra ausprägten.

Durch die Computertomographie konnten JOLIE et al. (1990) bei einem 3 Wochen alten Ferkel eine hochgradige Nasenmuschelatrophy diagnostizieren. Diese war bei der Schlachtung in der 30. Lebenswoche fast vollständig ausgeheilt. Auch NIELSEN u. FOGED (1992) fanden nach einmaliger intraperitonealer Applikation von Pmt-Toxin reversible Konchenatrophien vor.

PENNY (1977) stellte eine Liste von inneren und äußeren Faktoren zusammen, die das Erscheinungsbild von Infektionskrankheiten in Schweinebeständen und damit, im Falle der PRA, auch das Vorkommen und die Ausprägung pathomorphologischer Veränderungen maßgeblich beeinflussen können.

2.3 Historische Entwicklung der Vorstellungen über die Ätiologie und Pathogenese der Progressiven Rhinitis atrophicans

In ihren Abhandlungen „Rückblick auf die Forschung über die Rhinitis atrophicans in den letzten 35 Jahren“ (SCHÖSS 2001) und „175 Jahre Schnüffelerkrankung“ (IBEN 2005) beschreiben die Autoren den historischen Erkenntnisprozess für die Ätiologie und Pathogenese der Erkrankung eindrucksvoll.

Noch 1966 sahen BROWN et al. die morphologische Basis der Ra in einer generalisierten Ostitis (Osteodystrophia) fibrosa mit Invaginationen der Gelenkknorpel und Brüchen. Sie hielten eine ernährungsbedingte Hypokalzämie und ein erhöhtes Phosphorangebot für die einzige Ursache eines sekundären Hyperparathyreoidismus. Zeitgleich aber charakterisierte SCHÖSS (1966) die Ra schon als Infektionskrankheit. Von SCHÖNMUTH et al. (1968) wurden zwischen 1968 und 1970 umfangreiche und sehr aufwendige röntgenologische Massenuntersuchungen durchgeführt (SEIFERT 1970), in denen sie die von ihnen angenommene genetische Ätiologie der Erkrankung nachzuweisen versuchten. Obwohl DONE (1985) bereits die infektiöse Ätiologie der Erkrankung anerkannte, betonte er doch auch mehrmals ihre vermeintlich hereditäre Abhängigkeit.

Der erste formelle Nachweis der Erkrankung in Großbritannien erfolgte bei Nachkommen von Schweinen, die aus Schweden importiert worden waren. Wie in anderen europäischen Ländern auch, wurde sie auf der Insel konsequent durch die Merzung klinisch betroffener Herden bekämpft (DONE 1985). CROSS u. CLAFLIN (1962) und FARRINGTON u. SWITZER (1977) isolierten aus erkrankten Läufern Bb. Die klinische Erkrankung konnten sie sowohl durch die Inokulation

unbehandelten Konchengewebes, als auch durch die einer gewonnenen Bb-Reinkultur reproduzieren. Deshalb hielten sie, wie die meisten Untersucher, diesen Erreger für das entscheidende ätiologische Agens. Zwischen 1960 und 1980 dominierte diese Überzeugung die Forschung und Bekämpfung der Ra weltweit (DE JONG 2002, SCHÖSS 2001). AMIGOT et al. (1998) führten den Irrtum auf das extensive Bb-Wachstum bei der Untersuchung von Nasenmuscheln sezierter Schweine zurück. Dagegen konnten Pm-Stämme aufgrund ihrer höheren Wachstumsansprüche nur in weitaus weniger Fällen isoliert werden.

Die Beteiligung beider Bakterienspezies an den Prozessen der Ra wurde 1980 von DE JONG postuliert und auch von SCHÖSS (1977) angenommen. DIRKS et al. (1973) wiesen in ihren Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen der diagnostizierbaren Prävalenz von Pm und der Ra nach und reproduzierten das Krankheitsbild durch die intranasale Übertragung von Pm-Reinkulturen. Wie DE JONG (1980) schlussfolgerten auch sie aus erkannten Pathogenitätsunterschieden, dass nicht alle Pm-Stämme die Krankheit auslösen können. Durch ihre Infektionsversuche konnten PEDERSEN u. BARFOD (1981, 1982), ELLING u. PEDERSEN (1985) sowie DE JONG u. AKKERMANS (1986) die entscheidende ätiologische Rolle der Pmt demonstrieren (PEDERSEN et al. 1988).

CHANTER et al. ermittelten schon 1989 eine positive Korrelation zwischen der Menge angezüchteter Pmt und den bestimmten Nasenmaßen. Wie DE JONG u. AKKERMANS (1986) mit verschiedenen Pm-Stämme provozierten auch CHANTER u. RUTTER (1990) die beschriebenen atrophischen Erscheinungen durch die experimentelle Infektion mit einem Pmt Typ D-Stamm und bestätigten gleichzeitig die Möglichkeit, die Kolonisation der Bakterien und die Wirkung des Toxins durch die Applikation eines spezifischen Antiserums zu neutralisieren. DE JONG u. AKKERMANS (1986) und VAN DIEMEN et al. (1992a, b) konnten das Krankheitsbild durch die intranasale, MARTINEAU-DOIZÉ et al. (1990a) und CHAO-CHI et al. (1992) durch die intramuskuläre und NIELSEN u. FOGED (1992) auch durch die intraperitoneale Inokulation des gereinigten bzw. des Rohtoxins eines Pmt Typ D-Stammes auslösen.

2.4 Ätiologie

Pasteurella multocida, in Bergey's Manual der Familie Pasteurellaceae zugeordnet, ist ein kleines (0,2 - 0,3 x 0,3 - 2,0 µm), kokkoides bis ellipsoides, gedrungenes, unbewegliches, gramnegatives Stäbchen mit typischer bipolarer Kapselausbildung (SCHIMMEL 1987, BARTUSSEK et al. 2001, CHEN et al. 2002).

Seine charakteristischen biochemischen und phänotypischen Eigenschaften wurden von verschiedenen Autoren beschrieben (IORDACHE et al. 1980, KAMP et al. 1990, SCHIMMEL 1992a, KAVANAGH 1994, AMIGOT et al. 1998):

Katalase +, Oxidase schwach, D-Glucose (Säurebildung) +, Glucose (Gasbildung) -, Glucose (Fermentation) +, Haemolyse -, Citrat -, Malonate -, Hydrogensulfit -, Nitrat +, Urease -, Arginindihydrolase -, Lysin-dekarboxylase -, Ornithin-dekarboxylase +, Indol +, Phosphatase +, Gelatinase -, Aesculin -, Lactose -, Adonitol -, L(+)-Arabinose -, Dulcitol -, D(+)-Galaktose +, Glyzerol -, Inositol -, D(-)-Mannitol +, D(+)-Raffinose -, Rhamnose -, D(-)-Salizin -, D(-)-Sorbitol +, Sukrose +, Trehalose +, D(+)-Xylose +, Dextrose +, Saccharose +, Wachstum auf McConcey-Agar -, Voges-Proskauer-Reaktion -

Verschiedene Stämme können in einem oder mehreren dieser Merkmale von der Regel abweichen.

Auf künstlichen, festen Nährböden sind verschiedene Wuchsformen, wie schleimige (mucoid = M-), glatte (smooth = S-) und unbekapselte, sowie rauhe (rough = R-) Formen zu beobachten (CARTER 1955, SCHIMMEL 1987). Weniger häufige intermediäre Varianten, die aus dünn bekapselten Organismen zusammengesetzt sind, treten in Kulturen von Substraten aus Vögeln oder bei längerem Wuchs auf künstlichen Nährböden auf. Durch Präzipitations(Fällungs-)reaktionen und Kapselschwelltests an S-Formen konnten verschiedene Kapselantigene der Bakterienart nachgewiesen werden. Auf der Basis serologischer Unterschiede wurden 4 unterschiedliche Typen, A, B, D und E identifiziert (CARTER 1955). Auch die somatischen (O-)Antigene ermöglichen die Einteilung in verschiedene Serovare nach Namioka und Heddlestone (MEYERINGH et al. 1977, DE JONG u. AKKERMANS 1986, IWAMATSU u. SAWADA 1988).

Da BARTUSSEK et al. (2001) Schäden durch Pm nach experimentellen Monoinfektionen vermissten, betrachteten sie den Keim als Sekundärerreger, der wohl in der Lage ist, pathologische Prozesse zu verkomplizieren, selbst aber nicht auszulösen. Auch BINDER et al. (1992) und ACKERMANN et al. (1994) beobachteten die Kolonisation der Nasenhöhle klinisch gesunder Tiere mit Pm. Zur Auslösung einer klinischen Erkrankung ohne vorherige Abwehrschädigung ist eine hohe Erregerkonzentration notwendig (SCHIMMEL 1987).

DE JONG (1980) und SCHÖSS et al. (1980) registrierten die Existenz pathogener und apathogener Stämme. Einen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Kapseltypen und Pathogenitätsfaktoren konnten GRUND et al. (1990) nicht herstellen. DE JONG u. AKKERMANS (1986) fanden zwar eine Beziehung zwischen der Pathogenität der Erreger und ihrem Kapseltyp nach Carter, nicht aber zu einzelnen O-Antigenen. Sie regten weitergehende Pathogenitätsstudien für epizootiologische Untersuchungen an. Solche wurden von RÚBIES et al. (1996) mit Hilfe der Restriktions-Endonuklease-Analyse, von SCHIMMEL et al. (1997) mit der Ribotypisierung und von ZHAO et al. (1992) mit beiden Methoden durchgeführt. MÜLLER u. DINTER (1988) beobachteten bei Isolaten aus Krankenmaterial eine höhere Lebensfähigkeit als bei Laborstämmen. Wie GOIS et al. (1983b) die festgestellte längere Kolonisationsdauer, bewerteten sie diese als Charakteristikum einer höheren Virulenz.

Die Kapseltypen B und E gelangen im Zusammenhang mit akuten Pasteurellosen und haemorrhagischen Septikämien und ungleich häufiger beim Rind als beim Schwein zum Nachweis (SCHIMMEL 1987, PANIN u. DUSHUK 1994). Der Kapseltyp A dagegen wird überwiegend aus Pneumonien, Lungenabszessen, Pleuritiden und Perikarditiden des Schweines isoliert (ZHAO et al. 1992). Dabei handelt es sich in den meisten Fällen um nicht toxinogene Stämme (IWAMATSU u. SAWADA 1988, ERLER u. SCHIMMEL 1992, CHUNG et al. 1992, AWAD-MASALMEH et al. 1994, CALSAMIGLIA et al. 1996, RÚBIES et al. 1996). In einigen Arbeiten wurden Pm des Kapseltyps A in überwiegender Prävalenz auch aus den Nasenhöhlen von Schweinen nachgewiesen (BONG et al. 1992, AMIGOT et al. 1998). Dennoch tritt der Kapseltyp D in Europa in Herden mit klinischen Erkrankungen der Ra signifikant häufiger zu Tage (CARTER 1955, DE JONG u. AKKERMANS 1986, KIELSTEIN et al. 1986, HEER et al. 1995).

Molekulargenetische Untersuchungsmethoden (Nucleotidsequenzanalysen) erlaubten die vollständige Aufklärung der genetischen Sequenz zur Determinierung des Toxins, das die Ra verursacht. Sie wurde als *tox*A-Gen bezeichnet (KAMPS et al. 1990). Gemeinsam mit dem transskriptionalen Regulator *TxaR* und Sequenzen, die für einen transmembranen Transport von Bedeutung sein können, ist dieser DNA-Abschnitt für die Toxinbildung verantwortlich (PETERSEN et al. 1990).

In ihren Untersuchungen fanden DONNIO et al. (1999) einen signifikanten DNA-Polymorphismus der

toxinogenen Stämme, so dass diese keine eigene taxonomische Stellung als Subspezies innerhalb der Pm einnehmen. Die Autoren fanden keinen Unterschied des *tox*A-Gens aus Isolaten von Schweinen zu den Pmt anderer Spezies. FRANDSEN et al. (1990) ermittelten keine Möglichkeit, die in verschiedenen Spezies gebildeten Toxine voneinander zu unterscheiden.

Die Fähigkeit zur Toxinbildung ist sowohl bei nicht bekapselten, als auch bei Stämmen der Kapselserovare D und A und auch bei verschiedenen Typen der somatischen O-Antigene anzutreffen (MAGYAR u. RIMLER 1991). Trotzdem muss das Auftreten der PRa in den meisten Fällen und mit der größten Wahrscheinlichkeit mit der Anwesenheit von Pmt des Serotyps D nach Carter assoziiert werden. Toxinogene Stämme von *Pasteurella multocida* sind zwar in den Schweinepopulationen weit verbreitet, aber dennoch keine ubiquitären, sondern spezifisch pathogene Erreger, deren Eliminierung aus konkreten Beständen prinzipiell möglich ist (SCHÖSS et al. 1980, SCHÖSS 2001, DE JONG 2002).

2.5 Pathogenese

Potenziell pathogene Erreger von Atemwegserkrankungen, wie Bb und Pm lassen sich schon in den ersten Lebenstagen in den Nasenhöhlen und den oberen Atemwegen von Ferkeln nachweisen (FÜLDNER u. HORSCH 1991). Während Bb dabei durch Fimbrien und seine spezifische Endotoxinproduktion zur Kolonisation der Schleimhaut befähigt ist (KIELSTEIN et al. 1986), produzieren Pm das potentere Toxin. Sie zeigen sich aber weniger erfolgreich bei der Überwindung der strukturellen Integrität (DONE 1985, ACKERMANN et al. 1994). MAGYAR et al. (1988) und CHANTER u. RUTTER (1990) hielten das Toxin von Pm für ihren wichtigsten Kolonisationsfaktor. Letztere registrierten aber, dass spezifische Antikörper die Menge adhäsierender Keime zwar reduzieren, die Besiedlung aber nicht verhindern konnten.

Pm haben keine Affinität zum Epithel oder zum Drüsenparenchym und haften dem gebildeten Schleim an. Damit kommt diesem eine besondere Rolle für ihre Adhäsion zu (GRUND et al. 1990). Stämme des Kapseltyps A zeichnen sich durch eine bessere Haftung und eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber der Phagozytose aus (DONNIO et al. 1999). Der Ort des bevorzugten Aufenthaltes von Pm ist nicht die Nasenschleimhaut (NAKAI et al. 1988), sondern sind die Krypten der Tonsillen (PIFFER et al. 1992, ACKERMANN et al. 1994). GRUND et al. (1990) beschreiben Fimbrien unter speziellen Bedingungen und Zytoproteine als Adhäsionsfaktoren.

Um die Nasenhöhle erfolgreich kolonialisieren zu können, ist Pm auf die Wirkung prädisponierender Faktoren wie Infektionen mit Bb (ELLING u. PEDERSEN 1985, DE JONG u. AKKERMANS 1986, DUGAL u. JAKUES 1990, EHSE et al. 1993, GAGNÉ u. MARTINEAU-DOIZÉ 1993, ACKERMANN et al. 1994, NIELSEN u. ROSENDAL 1994), *Mycoplasma hyopneumoniae* (AMAAS et al. 1992, BÆKBO 1994), Viren der Aujeszky'schen Krankheit (CALSAMIGLIA et al. 1996) oder des Porzinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndroms (PRRS) (SOLINAC u. LE BRIS 1996) oder mit *Haemophilus parasuis* (GOIS et al. 1983a), reizende Schadgase in der Stallluft (SCHÖSS 1989, HEER et al. 1995) bzw. eine Vorbehandlung mit 1 %iger Salzsäure in experimentellen Versuchen (DE JONG u. AKKERMANS 1986, CHANTER u. RUTTER 1990, VAN DIEMEN et al. 1992a,b, GAGNÉ u. MARTINEAU-DOIZÉ 1993, ACKERMANN et al. 1994, NIELSEN u. ROSENDAL 1994) angewiesen. Diese Faktoren bewirken epitheliale Ödeme, eine Stagnation des Nasenschleims, eine Ziliostase oder Zilienverluste.

Erst durch diese Vorschädigungen werden die Pmt in die Lage versetzt, sich in der Nasenhöhle unter natürlichen Bedingungen auch mit deutlich geringeren Keimkonzentrationen als 10^6 bis 10^{10} KBE zu etablieren, wie sie für experimentelle Infektionen notwendig sind (MÜLLER u. DINTER 1988, SCHIMMEL 1992b). Auch eine nur kurzzeitig nachweisbare Anwesenheit kann ausreichend sein, um das Krankheitsbild auszulösen (ELLING u. PEDERSEN 1985). Das gebildete Toxin greift die Epithelien durch Diffusion oder haematogen an (DONE 1985). So sind auch Konchenveränderungen nach Pmt bedingten Pneumonien ohne eine Besiedlung der Nasenhöhle möglich (KIELSTEIN et al. 1986).

Das Toxin entwickelt nach intradermaler Applikation haemorrhagische Dermonekrosen beim Meerschweinchen, wird deshalb als dermonekrotisches Toxin (DNT) bezeichnet und wirkt für Mäuse letal (KAMP et al. 1990). Es besitzt keine Homologie zu anderen bekannten bakteriellen Toxinen und trägt auch die Bezeichnung osteolytisches Toxin (KAMPS et al. 1990). Als Protein mit 1285 Aminosäuren (PETERSEN et al. 1990) ist es thermolabil (DE JONG u. AKKERMANS 1986), büßt aber während einer Lagerung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ über Monate nichts von seiner biologischen Aktivität ein (BREUER u. SCHIMMELPFENNIG 1990).

Das Knochengewebe des Kopfes unterliegt physiologisch kontinuierlichen osteoblastischen und osteoklastischen Auf- und Abbauprozessen. Die Wirkung des Toxins vollzieht sich auf zellulärem Niveau (CHAO-CHI et al. 1992). Mit einem Säureanteil dringt es in lebende Zellen ein und verhindert durch ein Methylamin die Penetration durch andere Toxine und Viren. Seine Wirkung ist dosisabhängig (DE JONG u. AKKERMANS 1986). Als extrem potentes Mitogen erreicht es bereits in 300-fach geringerer molarer Konzentration den Effekt anderer (in vitro genutzter) Wachstumsfaktoren. Schon seine vorübergehende Exposition stimuliert die Zellen bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, nicht aber bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, zu einer maximalen DNA-Synthese. Diese Wirkung auf die Zellen lässt sich nur für eine kurze Zeit in einer frühen Phase durch ein Antiserum verhindern (ROZENGURT et al. 1990).

Während das Dermonekrotoxin von Bb die Proliferation normal konditionierter Zellen unterdrückt, erhöht das Toxin der Pmt die Zellproliferation der Osteoblasten. Dieser Effekt äußert sich in dünneren Zellen mit gedehntem Zytoplasma, dessen Menge an Kollagen des Typs I dem unbeeinflusster Zellen entspricht, und in einer irregulären Kerngröße (ONO et al. 1992). Auch Osteoklasten können mit einer verstärkten Proliferation reagieren. Ihre Zytoplasmaoberfläche und Anzahl können sich aber auch ohne Toxineinfluss verringern. Ein verstärkter Einstrom von Präosteoklasten aus dem Blut erfolgt nicht (LESNIEWSKI et al. 1996). Der ansteigende Serumspiegel der sauren Phosphatase (ACKERMANN et al. 1992) und die generelle Größe und Zunahme zytoplasmatischer Vakuolen der verbleibenden Osteoklasten aber dokumentieren deren verstärkte Resorptionsleistung und ihre systemisch anwachsende Aktivität (MARTINEAU-DOIZÉ et al. 1996). Gleichzeitig mit zunehmenden nekrobiotischen Untergängen von Osteozyten (ACKERMANN et al. 1992, LESNIEWSKI et al. 1996) können sich die Osteoblasten wegen ihrer hohen Proliferationsrate und der Schwäche ihres zytoplasmatischen Kollagens vom Typ I nicht zu funktionell tätigen Zellen differenzieren. Im Gegensatz zum Bb-Toxin bleibt die Sensitivität der Zellen gegenüber dem Toxin der Pmt unabhängig von ihrem Differenzierungsgrad erhalten (ONO et al. 1992).

Die Abnormität von Zellen und Matrix betrifft nicht nur die Knochen, sondern führt auch zur Einschmelzung des hyalinen Knorpels. So wird die ansteigende Resorption nicht durch nachwachsende neue Knochenformationen kompensiert (MARTINEAU-DOIZÉ et al. 1990b).

Bereits 2 - 3 Tage nach einer experimentellen Inokulation von Pmt-Toxin zeigen sich erste wahrnehmbare Alterationen durch die ansteigende Anzahl der Osteoklasten in den dem Knochenmark

anliegenden Schichten (ELLING u. PEDERSEN 1985). Die Oberfläche der ventralen Konchen verringert sich und schon 9 - 14 Tage nach einer kurzzeitigen Exposition können sie vollständig eingeschmolzen sein (ACKERMANN et al. 1992).

ELLING u. PEDERSEN (1985) und ACKERMANN et al. (1992) stellten keine signifikanten Wirkungen auf Blutzellen oder chemische Parameter und keine histologischen Veränderungen in anderen Knochenstrukturen oder Organen fest. Dagegen registrierten CHEVILLE et al. (1988) deutliche Anzeichen einer Hepatitis und Nekrosen in den proximalen Tubuli der Nieren. Auch DOSTER et al. (1990) fanden bei experimentell parenteral verabreichten hohen Toxindosen hepatozelluläre Degenerationen und Nekrosen vor, die zum akuten Ikterus führten. Wie auch die Untersuchungen von MARTINEAU-DOIZÉ et al. (1992) und MARTINEAU-DOIZÉ u. JUTRAS (1994), die ihre Experimente an Femura und Tibiae von Ratten und Mäusen durchführten, weisen diese Ergebnisse auf eine systemische Wirkung des Toxins hin. Die ließe eine Beeinträchtigung des Körperwachstums bei natürlichen Infektionen nicht ausschließen.

Durch eine experimentelle Infektion von SPF-Ferkeln mit Bb und Pm in der 3. oder 4. Lebenswoche konnte BERCOVICH (1978) noch eine schwache Brachygnathia superior bei einem Drittel der Probanden auslösen. Dieses gelang durch die Infektion in der 8. Lebenswoche bereits nicht mehr. Auch KIELSTEIN et al. (1986) betrachteten die ersten 10 - 12 Lebenswochen der Tiere als den entscheidenden Zeitraum für die Ausprägung der pathomorphologischen Veränderungen. DE JONG u. AKKERMANS (1986) fordern einen Schutz der Ferkel bis zur 9. Lebenswoche und für DONE (1977) stellt das reaktive Konchengewebe schnell wachsender, junger Schweine den sensibelsten Indikator für die Erkrankung dar. Allerdings bildeten die Tiere im Kontaktversuch von GLATTLEIDER et al. (1996) auch noch mit ca. 122 Tagen und 83 kg Lebendmasse schwere Konchenatrophien aus (siehe auch 2.1).

2.6 Immunologie

Im Rahmen ihrer Infektions- und Impfversuche wiesen PEDERSEN u. BARFOD (1982) auch die Antigenität des Pm-Toxins nach (siehe 2.3). DE JONG u. AKKERMANS (1986) registrierten im neutralisierenden Antitoxintest die Bildung von Antikörpern, die sie in Kaninchensera sicher quantifizieren konnten. Dabei beobachteten sie, wie auch CHANTER u. RUTTER (1990), eine Kreuzneutralisation zwischen dem von Typ D- und dem von Typ A-Stämmen gebildeten Toxin und hielten die Entwicklung von Impfstoffen für möglich. FOGET et al. (1989) produzierten durch die Inokulation eines gereinigten, inaktivierten Toxins in Jungsauen Serum- und kolostrale Antikörpertiter. Diese Antikörper ließen sich noch 8 bzw. 12 Wochen nach der Geburt im Serum der mit dem Kolostrum versorgten Ferkel nachweisen. Auch in Mäusetests wurden maternal gebildete Antitoxine an die Nachkommen übertragen (PETERSEN et al. 1990).

Trotz dieser Fakten gibt es keine Bestandsimmunität gegen Pmt. Unabhängig von der Toxinbildung werden aber Antikörper gegen Kapselantigene der Pm induziert, die weder die Infektion, noch die Erkrankung verhindern können. So besteht auch in einem infizierten Milieu kein maternaler Schutz für die Ferkel (BORDING JENSEN 1990, MARTELLI et al. 1994). Auch nach intranasalen Applikationen des Toxoids erfolgt keine zelluläre oder humorale Immunantwort. T-Lymphozyten besitzen offenbar keine Kapazität, das Antigen zu erkennen oder ihre Antwort wird moduliert bzw. inaktiviert (BORDING et al. 1990, VAN DIEMEN et al. 1992b, VAN DIEMEN et al. 1994).

Das erklärt, warum Impfantikörper häufiger und leichter nachzuweisen sind, als Antikörper als Reaktion auf Felderreger in infizierten oder erkrankten Tieren (FOGED et al. 1990, BECHMANN u. SCHÖSS 1991). Letztere erscheinen nach Neuinfektionen oft erst lange nach der Erregerisolation und zunächst in niedrigen Titern (DE JONG 1993). Zwar konnten BECHMANN u. SCHÖSS (1991) bei klinisch erkrankten Läufern die Antitoxine in doppelt so hoher Frequenz nachweisen wie bei gesunden Tieren Ra positiver Herden, die Höhe der ermittelten Titer aber stand in keinem Zusammenhang mit dem Grad der klinischen Veränderungen. Die Autoren vermuteten, dass die Reaktion auf die Feldinfektion vom Erreichen der Lunge durch die Erreger abhängig sein könnte. Dennoch fanden BECHMANN et al. (1992) nach einem Belastungsversuch mit Pmt des Typs D auch keine Korrelation zwischen ermittelten Titerhöhen und den vorgefundenen Lungenschäden.

Der Einsatz von Pmt-Ganzzellvakzinen zur maternalen Antikörperinduktion und zum Schutz der Ferkel gegen die PRA ist fragwürdig. Das Toxin ist intrazellulär festgelegt und dem Immunsystem damit nicht zugänglich (BORDING JENSEN 1990). Ein ähnlich mangelnder Effekt ist nach der Immunisierung mit ungereinigtem Rohtoxin zu verzeichnen (CHANTER u. RUTTER 1990). Aber auch die nachweisbare Antitoxinbildung nach einer Impfung mit einer Vakzine, die gereinigtes Pmt-Toxoid enthält, kann stark verzögert (ERLER u. SCHIMMEL 1992) und in sehr unterschiedlichen Konzentrationen erfolgen (ALT et al. 1993, DE JONG 1993). Dabei könnte die Auswahl der eingesetzten Adjuvanzen von entscheidender Bedeutung sein (BORDING et al. 1992).

Wie PEDERSEN u. BARFOD schon 1977 für die Impfung von Sauen gegen Bb und 1981 dann auch für die Impfung mit einer Pmt-Toxoid-Vakzine feststellten, enthält das Kolostrum nach der Vakzinierung das bis zu 10-fache der Serumantikörperkonzentration. FOGED et al. (1989) und ALT et al. (1993) fanden zudem eine hohe Korrelation zwischen den Serum- und Kolostrumtitern der Mütter und der Antitoxinkonzentration bzw. der Nachweisbarkeitsdauer im Serum ihrer Ferkel.

Mehrere Autoren weisen auf einen fehlenden Zusammenhang zwischen den messbaren Titerhöhen maternaler Antikörper und dem Ausmaß der klinischen und pathomorphologischen Erscheinungen der PRA bei der Nachzucht hin (BECHMANN u. SCHÖSS 1991, BORDING et al. 1992). Auch OSTLE et al. (1994) beobachteten, dass zwar die Existenz, nicht aber die Höhe von Antitoxintitern im Serum der Sauen mit dem Schutz der Ferkel korrelierte. Sie schlussfolgerten daraus, dass neben der Antitoxinbildung noch andere Mechanismen einer Immunreaktion existieren könnten. KIELSTEIN et al. (1986) fanden in ihrem Lienotox-Schutztest an Mäusen keine gemeinsamen protektiven Eigenschaften zwischen den Antisera, die sie nach der Inokulation von Bb bzw. Pmt gewonnen hatten.

Obwohl EURELL et al. (1990) einen scheinbaren Zusammenhang zwischen der Konzentration des Akute-Phase-Proteins Haptoglobin im Blutserum und Nasenmuschelatrophen ermittelten, konnten sie dieses Ergebnis statistisch nicht absichern. Sie vermuteten, dass der Nachweis der durchaus bestehenden Korrelation in ihren Untersuchungen durch freies Hämoglobin in den Proben beeinträchtigt wurde. ELIAS et al. (1992) fanden nach starker Pm-Exposition einen höheren IgA- und IgG-Gehalt im Nasenschleim von Ferkeln als bei weniger belasteten Tieren.

Ableitend aus den immunologischen Gegebenheiten halten GLAWISCHNIG et al. (1992), ALT et al. (1993), DE JONG (1993) und MARTELLI et al. (1994) die Möglichkeiten und Zuverlässigkeit serologischer Untersuchungen in der Diagnostik für begrenzt. Zur Statuserhebung für Einzeltiere und Herden fordern sie Methoden mit höherer diagnostischer Präzision, den direkten Erregernachweis.

2.7 Epizootiologie

Geographisch betrachtet ist die PRa weit verbreitet. Ihre Bedeutung wird jedoch von Land zu Land und von Zeit zu Zeit in einem Land in Abhängigkeit von ihren Nachweisen und den ökonomischen Auswirkungen unterschiedlich wahrgenommen (DONE 1985). Epizootiologische Erhebungen existieren i. d. R. nicht.

Beschreibungen über die Existenz, Ausbrüche der Erkrankung mit Nachweisen ihres Erregers oder wirtschaftliche Schäden liegen aus allen Teilen der Welt und vielen europäischen Ländern vor. So berichteten u. a. DESCAMPS et al. (1990) aus Belgien, BORDING et al. (1992) und BACH (persönliche Mitteilung, Keld Bach, Kolding, 2004) aus Dänemark, AVRIL et al. (1990), GLATTLEIDER et al. (1996) und SOLINAC u. LE BRIS (1996) aus Frankreich, DOUGLAS u. RIPLEY (1984), GOODWIN (1988) und GOODWIN et al. (1990a, b) aus Großbritannien, MARTELLI et al. (1994) aus Italien, UDOVIČIĆ et al. (1996) aus Kroatien, DE JONG u. BRAAMSKAMP (1994), DE JONG et al. (1996) und DE JONG (2002) aus den Niederlanden, GLAWISCHNIG et al. (1992) und WERNER-TUTSCHKU et al. (1997) aus Österreich, PEJSAK et al. (1990a, b) aus Polen, MATTSON et al. (1992) und WALLGREN et al. (1994a, b) aus Schweden, CORBOZ et al. (1992) aus der Schweiz, RÚBIES et al. (1996) und AMIGOT et al. (1998) aus Spanien und ELIAS et al. (1992) aus Ungarn über Fallbeispiele.

Die von KAVANAGH (1994) in einer Zuchtherde Irlands isolierten Pmt konnten sich nicht ausbreiten und wurden durch die eingeleiteten Maßnahmen aus der Herde eliminiert. Die Installation eines Routinekontrollprogramms aber spricht für die Befürchtung einer Infektion der Schweinepopulation auf der Insel. Bei ihren Untersuchungen von 3258 Schweinen zwischen 30 und 100 kg Lebendmasse aus 160 Herden Finnlands, die aus 1086 Testgruppen in 6 Prüfstationen zusammentrafen, konnten RAUTIAINEN u. LAINE (1996) aus keiner der 230 gewonnenen Nasentupferproben den Erreger isolieren. Daraus schlussfolgerten sie, auch auf frühere Kontrollen beziehend, eine sehr geringe Prävalenz für dieses Land.

In Deutschland besteht nach dem Tierseuchengesetz keine Anzeigepflicht, jedoch die Meldepflicht entsprechend der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten vom 11. April 2001 (BGBl. 2001 Teil I Nr. 16 S. 540 v. 20.04.2001, zuletzt geändert am 20.12.2005 durch BGBl. 2005 Teil I Nr. 74, S. 3499, Art. 3 v. 23.12.2005). Veröffentlichungen, wie die von BINDER et al. (1992) und SCHNÜLL et al. (2001) aus Bayern, LIESCHKE et al. (1991) aus Brandenburg, Sachsen und Thüringen, RATHMANN u. THOM (2002) aus Mecklenburg-Vorpommern, BECHMANN u. SCHÖSS (1991), MATSCHULLAT et al. (1994) und ALT et al. (1996) aus Niedersachsen, HEER et al. (1995) aus Schleswig-Holstein oder EGER u. AMTHOR (2004) aus Thüringen verdeutlichen, dass die PRa in allen Bundesländern noch immer eine Problematik hoher Aktualität darstellt.

Die Ausbreitung der Pmt und mit ihnen die der PRa in der Schweinepopulation erfolgt in den meisten Fällen durch die Eingliederung latent infizierter Tiere in die Bestände (PEDERSEN et al. 1988). So beschreiben SCHÖSS et al. (1980) und MARTELLI et al. (1994) Ausbrüche nach dem Zukauf von Jungsauen bzw. Mastläufern. Daraus ergeben sich die häufigsten Eintragsquellen: unkontrollierter Tierzukauf, akute, noch nicht erkannte Infektionen in Lieferbeständen, direkte Kontakte zu anderen Schweinen oder kontaminierten bzw. infizierten Vektoren (SCHÖSS et al. 1980). Große, expandierende Herden mit Tierzukauf tragen so ein höheres Infektionsrisiko, als kleine, statische, geschlossene Bestände (PENNY 1977, PLONAIT 1990). Die Forderung des alleinigen Einsatzes von

Ebersperma aus Pmt negativen Eberstationen in den Niederlanden (DE JONG 2002) wurde erhoben, um eine Übertragungsmöglichkeit durch unbelebte Vektoren (Kontaktinfektionen über Besamungsmaterialien) auszuschließen.

Innerhalb einer Herde kann die Erregerprävalenz zwischen den Altersgruppen sehr unterschiedlich verteilt sein. So ermittelten WALLGREN et al. (1994a) einen signifikanten Anstieg der Nachweisrate bei Tieren im Alter zwischen 3 bis zu 6 - 7 Monaten und einen weiteren tendenziellen Anstieg bis zum Alter von 1 Jahr. Danach bildete sich ein Plateau bis zu einem Alter von etwa 2 Jahren heraus, das dann in einen allmählichen Abfall mündete. BERCOVICH (1978) maß der Sau im Ergebnis seiner Versuche nur eine untergeordnete Bedeutung für die Pathogenese zu. Dagegen konnten WALLGREN et al. (1994b) in 7 von 8 Ferkeln einer infizierten Sau und in 10 von 16 Ferkeln ihrer Nachbarwürfe Pmt nachweisen. Damit entstammten 39 % aller positiv getesteten Tiere allein diesen 3 Würfen. Obwohl die größte Gefahr einer später klinisch apparenten Infektion für die Ferkel im Alter bis zu 4 - 5 Wochen besteht, ist es notwendig, sie bis zur 6. - 8. (BORDING JENSEN 1990) bzw. 9. (DE JONG u. AKKERMANS 1986) Lebenswoche zu schützen. GLATTLEIDER et al. (1996) demonstrierten in ihrem Versuch (siehe auch 2.1) die horizontale Übertragung und ihre Folgen noch mit 122 Lebenstagen.

Die Ausscheidung der Pmt erfolgt über den Schleim aus den Bronchien, aus dem Rachenraum und von den Tonsillen, sowie über das Nasensekret, die Übertragung durch Kontakte und Inhalation (MÜLLER u. DINTER 1988). Dabei können mehrere Faktoren die Ausbreitung im Bestand fördern oder ihr entgegenwirken: die Altersstruktur der Herde, die Größe der Abferkelgruppen, das Versetzen der Ferkel beim Säugen, die Belegungsdichte, das Mischen von Tiergruppen, das Luftvolumen und die Raumtemperatur, das Hygieneregime, die Bewirtschaftung im Alles-rein-alles-raus-Verfahren, die Fütterungstechnologie und damit die Staubbelastung der Stallluft, Medikationen oder Vakzinierungen und die Anwesenheit sonstiger Erkrankungen und Erreger (PENNY 1977). So ermittelte NIELSEN (1990) eine höhere Ra-Prävalenz in kleinen Herden, beim Verbleiben der Ferkel nach dem Absetzen im Abferkelstall, bei subjektiv schlechter Stallluft und bei einem Verzicht auf medikamentöse oder immunprophylaktische Maßnahmen. Die Anwesenheit mehrerer Altersgruppen an einem Standort ist oft problematisch (SCHNÜLL 2001). WALLGREN et al. (1994b) konnten Pmt nur in Hampshire-, nicht aber in Landrasse- oder Yorkshire-Herden nachweisen. Eine Rassendisposition ist somit nicht auszuschließen. Dieses Ergebnis stützt die Thesen SEIFERTs (1970) von einer hereditären Abhängigkeit der Erkrankungsbildung und weist auf die Möglichkeit einer genetischen Disposition auch für die bakterielle Empfänglichkeit hin. Bei PEDERSEN u. BARFOD (1982) wurde der Erreger trotz Sorgfalt zwischen 2 voneinander isolierten Versuchssektionen übertragen, die durch eine Hygieneschleuse getrennt waren. Dem gegenüber blieben der gemeinsame Transport von infizierten und nicht infizierten Sauen und eine gemeinsame Wartezeit von bis zu 6 Stunden ohne Einfluss auf die Erregernachweisrate bei der anschließenden Schlachtung (DE JONG u. BRAAMSKAMP 1994). Auch im Versuch von DIRKS et al. (1973) wurde die Krankheit, anders als bei GLATTLEIDER et al. (1996) (siehe auch 2.1), durch den direkten Kontakt nicht von experimentell infizierten auf andere Ferkel übertragen.

Die Tenazität von Pm kann etwa 2 - 3 Tage im Stallstaub (SALIOU 1987), 7 Tage in der Gülle und 24 Tage in Fliegen betragen. Bei einer angestrebten relativen Luftfeuchtigkeit von ca. 60 %, Temperaturen von 21 - 34 °C und Halbwertszeiten von 15 - 35 Minuten beträgt die Verweildauer der einzelnen Keime in der Stallluft ca. 15 Minuten (MÜLLER u. DINTER 1988). NIELSEN (1990) ermittelte bis zu einige 100 Pmt pro Kubikmeter Stallluft. Die aerodynamische Größenklasse, der die

Bakterien angehören, ermöglicht die Kontamination der Schleimhäute des Atmungstraktes bis in die Lungen. Damit wird auch eine aerogene Übertragung wahrscheinlich (MÜLLER u. DINTER 1988). DE JONG et al. (1994) hielten die aerogene Infektion einer Zuchtherde von in der Nähe befindlichen Mastschweinen über eine Entfernung von 200 m für möglich. Bei sachgerechter Reinigung und Desinfektion ist die Beseitigung der Pmt aus leeren Stallanlagen und von Arbeitsgeräten eine lösbare Aufgabe (SCHÖSS et al. 1980).

Pmt kommen auch bei anderen Tierarten und beim Menschen vor. Zwar konnten FRYMUS et al. (1992) die Ra von Kaninchen nicht auf Ferkel übertragen, aber 1996 wiesen FRYMUS et al. Pmt in Nasentupferproben von Schafen und Rindern nach. SCHÖSS et al. (1980) ziehen Katzen und Schädner als belebte Vektoren in Betracht. TOWNSEND et al. (2000) schlossen eine Infektion von Rindern durch Schweine nicht aus. NIELSEN u. FREDERIKSEN (1990) lösten die PRA bei Ferkeln durch die intranasale Inokulation eines vom Menschen isolierten Pmt Typ D-Stammes aus. DONNIO et al. (1999) verweisen auf positive Pmt-Befunde bei Menschen, die in der Nähe von Schweinen leben und arbeiten. Aus den Rachentupferproben 49 untersuchter, gesunder Schweinezüchter isolierten AVRIL et al. (1990) bei 19 Personen Pm der Kapseltypen A und D. Allerdings prüften sie nicht das Toxinbildungsvermögen. Eine wechselseitige Übertragung und die Vektorenrolle von Menschen sind also möglich. Die Bedeutung der Pmt als Zoonoseerreger wird von DE JONG (2002) speziell erwähnt und durch die Untersuchungen von NIELSEN u. FREDERIKSEN (1990) und DONNIO et al. (1999) unterstrichen.

2.8 Wirtschaftliche Schäden

Eine profitable Produktion und der optimierte Rückfluss der Investitionen sind prinzipielle Notwendigkeiten für die wirtschaftliche Existenz Schweine produzierender Betriebe. Deshalb stellt die Ra eine potenzielle Bedrohung dar (DONE 1985). PENNY (1977) ordnete die eintretenden Schäden den folgenden Kategorien zu: 1. Effekte auf die Produktivität der Tiere, 2. Kosten für Behandlungen und Kontrollmaßnahmen, 3. Risiken für die menschliche Gesundheit und 4. Effekte auf die Vermarktung.

In einer Literaturübersicht von LIESCHKE et al. (1989) wurden in ca. einem Drittel der Fälle keine Zusammenhänge zwischen der Ra und Depressionen der Mast- und Schlachtleistung festgestellt. Andere ausgewertete Quellen beschrieben dagegen eine Reduktion der täglichen Lebendmassezunahmen um 2 - 17 % und einen negativen Einfluss auf die Schlachtkörperqualität. So beobachtete BALLINGER (1992) einen engen Zusammenhang zwischen verringerten Ra-Morbiditätsraten und den erzielten Schlachtkörpermassen der ausgewerteten Tiergruppen. Allerdings weicht die erreichte Schlachtkörpermasse bei einer geringen Ausprägung der Konchenatrophien nicht merklich von der gesunder Tiere ab (BERCOVICH 1978). Die Zunahmeleistung und das Schlachalter der Tiere hängen so signifikant vom Grad der Atrophie ab (BORDING et al. 1992). Auch registrierten PEDERSEN u. BARFOD (1981) nachweislich niedrigere Lebendmassezunahmen nur bei schweren Konchenreduktionen. In einem Großbetrieb waren die Schlachtkörpermassen bei mittelgradigen Ausprägungen durchschnittlich um 4,2 %, bei hochgradigen Veränderungen um 11,3 % gegenüber nicht von der Ra betroffenen Bestandsgefährten verringert (LIESCHKE et al. 1989). Außerdem sank der Anteil der Tiere, die den Schlachtwertklassen I und II zugeordnet werden konnten, von 60,3 % für Schweine ohne Ra auf 55,8 % für geringgradig bzw. 44,7 % für hochgradig betroffene Tiere.

VAN AKEN et al. (1992) konnten keinen Zusammenhang zwischen der Ra, Lungenläsionen und dem Gesamtgesundheitsstatus erkennen. Nach einer Literaturanalyse betonte BLAHA (1993) jedoch auftretende Interferenzeffekte: Bei der Ra allein wurden Reduktionen des wirtschaftlichen Ertrages von bis zu 17 %, durch schwere Lungenschäden allein bis zu 30 % und bei additiven Minderleistungen infolge beider Komplexe bis zu 40 % ermittelt (zitiert nach Madec u. Tillon 1988 und Straw et al. 1989). In den Auswertungen von SEIFERT (1970) erreichten Mastschweine, an denen röntgenologisch (bei einer Lebendmasse von ca. 40 kg) eine schwere Deformation der Kopfknochen und postmortal Befunde der Enzootischen Pneumonie (EP) diagnostiziert wurden, durchschnittlich eine um bis zu 22,5 % geringere Tageszunahme als Schweine ohne diese morphologischen Veränderungen. Außerdem mussten 90 % dieser Tiere vor dem geplanten Ende der Mastperiode wegen ihrer Minderleistungen gemerzt werden. Bei Schweinen, die nur einen hochgradig positiven röntgenologischen Untersuchungsbefund des Kopfes im Sinne der Ra aufwiesen, reduzierte sich die erreichte Tageszunahme dagegen nur um 12,2 %. In dem bereits oben erwähnten Großbetrieb konnte nur ein Anteil von 3,2 % nasen- und lungengesunder Schlachtschweine registriert werden, wobei diese Tiere mit durchschnittlich 85 kg die höchsten Schlachtmassen erzielten (LIESCHKE et al. 1989).

Aus den Ergebnissen retrospektiver Erhebungen der Lebendmasseentwicklung im Verhältnis zu den postmortal ermittelten Ra-Veränderungen an 939 gleichaltrigen Schlachtschweinen leiteten LIESCHKE et al. (1991) ab, dass die Ra bereits in einem frühen Lebensalter die Entwicklung negativ beeinflusst und die späteren Leistungsminderungen verursacht: schon in den ersten 42 Lebenstagen war das durchschnittliche Absetzgewicht um 0,7 kg (= - 10 g tägliche Zunahme), am 100. Tag um 3,2 kg (= - 26 g Masttagszunahme) und am 245. Lebenstag um 6,7 kg (= - 46 g Masttagszunahme) reduziert. Die Autoren schlussfolgerten außerdem, dass die Ausprägung und das Maß der Leistungsminderungen vom Wirken komplexer Faktoren bestimmt sein müssen: Während in einem Betrieb F der Anteil an Tieren mit Ra zwischen 45,1 und 57,1 % betrug und Leistungsdepressionen von 2,1 bis 8,9 % verzeichnet wurden, waren in einem anderen Bestand I mit 60,8 bis 74 % von der Ra betroffener Schweine nur 0,1 bis 4,6 % Minderzunahmen zu registrieren. Auch BARTUSSEK et al. (2001) stellten signifikant schlechtere Zuwachsleistungen und Futterverwertungen in Gruppen von Schweinen fest, die im Rahmen eines Umweltversuches standardisiert unter messbar schlechteren Luftbedingungen auf Teilspaltenboden mit Stroh gehalten wurden, aber trotz gezielter Belastung mit einem toxinogenen Typ A-Stamm weder Konchen-, noch Lungenveränderungen ausgeprägt hatten.

Wie direkte Tierverluste und Leistungsdepressionen führt auch jede Bekämpfung zu Störungen des Produktionsablaufs und zu wirtschaftlichen Schäden (PLONAIT 1990). Im Rahmen solcher Maßnahmen bezifferte PETERS (2002) die Kosten für einen Impfstoffeinsatz in Zuchtherden mit ca. 6,- € pro Sau und Jahr. Zeit- und kostenintensive metaphylaktische Behandlungen mit Antiinfektiva erreichen oft nur einen unbefriedigenden Erfolg (SCHÖSS et al. 1980). Zwischen 1986 und 1989 wurden allein im Einzugsgebiet der Landwirtschaftskammer Hannover im Rahmen der mindestens zweimal jährlichen klinischen Untersuchungen nach den Richtlinien der niedersächsischen Tierseuchenkasse 2592 Nasentupferproben entnommen und ihre Untersuchung auf Pmt am Tiergesundheitsamt veranlasst (MATSHULLAT et al. 1994). Dies erforderte einen hohen personellen und materiellen Aufwand. Im Zeitraum von Oktober 1994 bis zum Februar 1996 gelangten aus der gleichen Region nochmals 5430 Blutproben zur serologischen Kontrolle auf Antitoxine (MÜLLER et al. 1996). Die immensen wirtschaftlichen Belastungen für die Tilgung der Ra durch den Austausch ganzer Herden, die PLONAIT (1990) mit ca. 1000 DM pro Sau bezifferte, können von vielen Landwirtschaftsbetrieben nur unter Inanspruchnahme staatlicher Unterstützung und Förderungen getragen werden (DE JONG 2002). Von 1971 bis 1977 wurden beispielsweise im Weser-

Ems-Gebiet 235 Betriebe der Bestandsgrößen von 10 bis 150 Sauen mit Beihilfen der niedersächsischen Tierseuchenkasse von bis zu 30 % des Wiederbeschaffungswertes der Tiere auf diese Weise saniert. Dabei brach die Erkrankung in 6 % der Bestände innerhalb von 3 Jahren wieder aus (SCHÖSS et al. 1980). Dem gegenüber schätzen ALT et al. (1996) die Kostenersparnis durch einen Teilbestandsaustausch nach bakteriologischer und serologischer Diagnostik auf etwa 60 %. SCHNÜLL (2001) erwähnt die wirtschaftlichen Einbußen im Rahmen eines Sanierungsversuchs durch die notwendige nachzuchtfreie Phase.

Maßgeblich für den Entschluss vieler Landwirte 1971 - 1977 im Weser-Ems-Gebiet, die Ra aus ihren Herden zu tilgen, war die Unmöglichkeit, Zuchttiere und Mastferkel aus betroffenen Beständen als Qualitätsprodukte zu verkaufen (SCHÖSS et al. 1980). BOLLWAHN (1988) wies auf die Verkauferschwernisse, vor allem für infizierte Zuchtbetriebe im engeren Sinne und Auseinandersetzungen zwischen Käufern und Verkäufern hin. DE JONG (2002) nannte in seinem Vortrag zur Bekämpfung der Rhinitis atrophicans in den Niederlanden die folgenden Beispiele: Mastläufer mit schweren klinischen Erscheinungen der PRA sind in den meisten europäischen Ländern unverkäuflich und müssen i. d. R. gemerzt werden. Für Läufer, deren klinisches Erscheinungsbild den Verdacht auf das Vorliegen der Erkrankung nahelegt, müssen Mindererlöse von 25 - 50 % kalkuliert werden. Kommen in Dänemark Mastschweinepartien mit erkennbaren Symptomen der PRA zur Schlachtung, werden diese mit Auszahlungssanktionen von bis zu 5 % des Durchschnittspreises belegt (zitiert nach PENNY 1977). Das unangekündigte Einstellen der Impfung in gelieferten Mastläuferpartien zog in den Niederlanden Regressforderungen von 20 - 40 Niederländischen Gulden je Tier nach sich. Auch die Auslieferung PRA infizierter Jungsauen ohne Warnung des Empfängerbetriebes vor dieser bekannten Tatsache hat in den Niederlanden schon zu Schadensersatzansprüchen von bis zu 50 000 Gulden geführt. Neuerdings wird hier auch die Forderung nach der Freiheit der Besamungsstationen von dem Erreger erhoben, um Einträge über Kontaktinfektionen in negative Sauenherden zuverlässig auszuschließen.

2.9 Diagnostik

Seit dem Anfang der 70er Jahre des 20. Jahrhunderts verfolgte die spezielle Diagnostik der Ra 2 Ziele: 1. die Suche nach den Ursachen der Erkrankung, um sie wirkungsvoll bekämpfen zu können und 2. die Objektivierung und Standardisierung der Messungen quantitativer Schäden als Begleitung eines Gesundheitsmanagements mit minimalem Kostenaufwand (DONE 1985). Seit der Klärung der Ätiologie kam als 3. Zielstellung die Herdenüberwachung und Abklärung von Verdachtsfällen zur Verhinderung der Erregerverbreitung hinzu (DE JONG u. NIELSEN 1990).

2.9.1 Klinische Diagnostik

Die Beurteilung klinischer Parameter ist meist subjektiv (DE JONG 1993) und bereitet nur bei ausgeprägter Klinik kein Problem (PEDERSEN et al. 1988, DE JONG 1993). Um so wichtiger erscheint die Objektivierung der Methodik und die Quantifizierung der Symptome am Einzeltier und in der Herde (DONE 1985). Ein Versuch, diese Aufgabe zu lösen, war das Gesundheitsschema für die Ra der Britischen Schweinegesundheitskontrollvereinigung von 1978 (GOODWIN et al. 1990a). Auch die Richtlinien der II. Medizinischen Universitätsklinik für Kleintiere der Veterinärmedizinischen Universität Wien, vor allem für Symptome des Atmungstrakts, der Haut und des Bewegungsapparates (BARTUSSEK et al. 2001) verfolgten dieses Ziel. Erste Voraussetzung der Beurteilung ist die

gründliche Adspektion der Gruppen und Einzeltiere mit besonderer Beachtung äußerer klinischer Erscheinungen (2.1). Dabei können u. a. Deformationen des Gesichtes erkennbar werden (CAMERON et al. 1980). Wegen der hohen Korrelation zu den Konchenatrophien von $r^2 = 0,61$ ermöglicht die Bestimmung des Grades der Verkürzung der Oberkiefer, der Brachygnathia superior, das Auffinden von Tieren mit pathologischen Konchenveränderungen noch vor der 8. Lebenswoche (BERCOVICH u. DE JONG 1976).

Die Ermittlung des Nies- oder Hustenindexes pro Tier erfolgt nach dem Auftreiben der Gruppen durch Zählung der jeweiligen Erscheinung in einer Zeiteinheit und die Division durch die Anzahl der Schweine (DOUGLAS u. RIPLEY 1984, DONE 1985, AMAAS et al. 1992, GLATTLEIDER et al. 1996).

Auch für die Beurteilung der Produktivität besteht die Notwendigkeit zur Erfassung der Morbiditäts- und der Mortalitätsrate (KOVÁCS u. MAGYAR 1996), der Lebendmassezunahme bzw. der Länge der Mastperiode und der Futterverwertung. Dazu sind Einzeltier- oder Gruppenwägungen in verschiedenen Lebensaltern sowie die Erfassung der Schlachtkörpermassen und der Futteraufnahme erforderlich (BARFOD et al. 1990, VAN AKEN et al. 1992, BÆKBO et al. 1994, KOVÁCS u. MAGYAR 1996, BARTUSSEK et al. 2001). Ergänzend können Informationen über die Schlachtkörperqualität hinzugezogen werden (LIESCHKE et al. 1989).

Neben der chronischen, schweren Rhinitis ordnete DONE (1977) Gesichtsdeformationen auch anderen Erkrankungen zu: In seiner Aufzählung erwähnt er paranasale Abszesse im Saugferkelalter, eine ernährungsbedingte, mit sekundärem Hyperparathyreoidismus verbundene Osteodystrophia fibrosa (den sogenannten „Großkopf“) bis zum 6. Lebensmonat, eine zuchtbedingte, vermutlich polygenisch determinierte Brachygnathia superior und das Vorragen des Unterkiefers als Ergebnis wahrscheinlich multifaktorieller Störungen der Knochenumbildung hauptsächlich im Erwachsenenalter. Auch SCHÖSS et al. (1980) machen auf Schwierigkeiten der Differentialdiagnostik und bei der klinischen Beurteilung für geringgradige Fälle aufmerksam.

2.9.2 Pathomorphologische Diagnostik

Am häufigsten wird die konventionelle Bestimmung des Grades der Konchenatrophie zur objektiven, standardisierten Bewertung genutzt. Diese bereitet bei ausgeprägten Veränderungen keine Schwierigkeiten. Problematisch aber wird sie bei einer Symptomatik geringen Grades und dem Auftreten von Hypoplasien anderer Genese (DE JONG 1993). Die Beurteilung erfolgt nach der Anfertigung eines Nasenquerschnitts in Höhe des 1., in Ausnahmefällen des 2. (BONG et al. 1992) prämolaren Zahnpaares. Dabei kann die Bewertung im Gesamtüberblick (GOIS et al. 1983a, COLLINS et al. 1989, LIU u. PENG 1990) oder jeder der einzelnen Strukturen (Deformation des Os rostrale, Atrophie der Conchae nasales ventrales et dorsales, Abweichungen des Septum nasi von der Senkrechten) nach verschiedenen Intensitäten erfolgen (JOLIE et al. 1990, VAN DIEMEN et al. 1992, KOVÁCS u. MAGYAR 1996). Gegebenenfalls wird sie in ein Schadensmaß umgerechnet.

Zur Objektivierung der Ergebnisse wurde die Bestimmung verschiedener Maßzahlen für Raum- und Längen- bzw. Umfangs- und Flächenverhältnisse in der Nasenhöhle entwickelt. Dazu gehören die turbinate Querschnittsfläche und ihr Verhältnis zur Nasengangsquerschnittsfläche, das turbinate Flächenverhältnis, (COLLINS et al. 1989, JOLIE u. THACKER 1990) und die aktuelle Höhe des

Raumes zwischen der ventralen Nasenrolle und dem Boden der Nasenhöhle in mm (BARFOD et al. 1990, PEJSAK et al. 1990a). Die Sägetechnik wurde inzwischen vervollkommen (LIESCHKE et al. 1989) und die Auswertung kann computergestützt nach digitalisierten Paustafeln erfolgen (MARTINEAU-DOIZÉ et al. 1990a, PEJSAK et al. 1990a). Trotzdem können Probleme der Querschnittsdicke, des Absägewinkels und Beschädigungen der Nasenschleimhaut oder -muscheln die Ergebnisse beeinflussen (DE JONG 1993).

Neben dem Ausschluss dieser Nachteile eröffnen die Nasenradiografie (SCHÖNMUTH et al. 1968, SEIFERT 1970, DONE 1976) und die Computertomografie (JOLIE et al. 1990) die Möglichkeit, die Untersuchungen auch am lebenden Schwein vorzunehmen und Entwicklungen zu verfolgen. Für die erste Methode müssen Parameter zur qualitativen und quantitativen Interpretation erarbeitet werden. Die zweite Methode erfasst in 2 - 3 optischen Tastungen jeweils Gewebeschichten von ca. 2 mm Stärke in Höhe des 1. prämolaren Zahnpaars. Sie werden wie die Maße der Nasenquerschnitte beurteilt.

Für histologische Untersuchungen werden die entnommenen Strukturen mit Formalin fixiert und 3 µm starke Schnitte HE bzw. PAS zur Darstellung der Becherzellen gefärbt. Durch lektinhistochemische Untersuchungen sind Veränderungen des Glycoproteinmusters von Epithel- und Drüsenzellen nachweisbar (BARTUSSEK et al. 2001).

Als weitere morphologische Untersuchungen werden die diagnostische Sektion, bei der gleichzeitig die Beurteilung der Atmungsorgane in situ ermöglicht wird (SCHIMMEL 1992b) und die Rhino- bzw. Endoskopie (SCHNÜLL 2001) erwähnt.

Abschließend bleibt, nochmals in aller Deutlichkeit zu betonen: Jede, auch noch so deutliche klinische oder pathomorphologische Abweichung, die das Vorliegen der PRa suggeriert, ist zunächst als Verdachtsmoment zu bewerten. Erst der Nachweis der Pmt berechtigt zur Stellung der Diagnose der progressiven Form der Erkrankung (PEDERSEN et al. 1988, DE JONG u. NIELSEN 1990).

2.9.3 Kultur, Charakterisierung und Differenzierung von *Pasteurella multocida*

Probenentnahme

Die Diagnose und die Schätzung der Infektionsrate mit toxinogenen *Pasteurella multocida* (Pmt) sind von der Frequenz bzw. dem Umfang der Beprobung, der Auswahl der Probanden, der Entnahmetechnik bzw. dem Probenmaterial, der Qualität der Entnahme, dem Transport und den analytischen Methoden abhängig (CAMERON et al. 1980, DE JONG 1993).

Die Häufigkeit der Beprobung und der Stichprobenumfang müssen sich am angestrebten Ziel der Untersuchungen orientieren und sollten in einheitlichen Richtlinien für bestimmte Gruppen von Beständen mit gleichem Infektionsstatus festgeschrieben sein. Diese stellen einen Kompromiss zwischen dem notwendigen Informationsgehalt einerseits und der Praktikabilität, der Erfahrung, der Schätzung von Prävalenzen und dem erforderlichen manuellen und finanziellen Aufwand unter Berücksichtigung der Effektivität der eingesetzten Verfahren und der Sensitivität und Spezifität der angewandten labordiagnostischen Methoden andererseits dar (DE JONG 1993). So kann sich der notwendige Stichprobenumfang für eine Prävalenzschätzung von ca. 5 % zur Kontrolle negativer

Herden gegenüber dem für die angenommene Prävalenz von 10 % in infizierten Beständen verdoppeln (EGER 2004). Beim Versuch der Eradikation durch die Selektion der Reagenten müssen alle Tiere eines Zuchtbestandes mehrmals beprobt werden (ALT et al. 1996, SCHNÜLL 2001). KOVÁCS u. MAGYAR (1996) kontrollierten 6 - 14 %, MAGYAR u. KOVÁCS (1996) 30 % der Tiergruppen, um ein aussagefähiges Ergebnis über den Herdenstatus zu erhalten.

WALLGREN et al. (1994a) ermittelten die höchste Erregerprävalenz bzw. Nachweisrate bei Tieren zwischen dem 6. und 12. Lebensmonat und empfehlen diese Altersgruppe für die Probenentnahme (WALLGREN et al. 1994b). Die Ergebnisse von GOODWIN et al. (1990b) und anderer Untersucher zeigen jedoch, dass die verschiedenen Produktionsstufen und Altersgruppen sehr unterschiedliche Häufigkeiten positiver Befunde aufweisen können. Nicht immer müssen diese die klinischen und pathomorphologischen Symptome widerspiegeln (ELLING u. PEDERSEN 1985, GOODWIN et al. 1990a, ACKERMANN et al. 1994) (Tab.1).

Tab. 1: Morphologische Parameter und Pmt-Nachweise in verschiedenen Altersgruppen aus 5 Beständen (nach GOODWIN et al. 1990b)

Herde		Sauen		Saugferkel		Absatzferkel		Läufer	
	mittleres Nasenmaß	Anzahl Proben	Anzahl (Anteil) positiver Tiere (in %)	Anzahl Proben	Anzahl (Anteil) positiver Tiere (in %)	Anzahl Proben	Anzahl (Anteil) positiver Tiere (in %)	Anzahl Proben	Anzahl (Anteil) positiver Tiere (in %)
A	3,14	40	2 (5)	40	17 (42)	40	7 (17)	50	15 (30)
B	1,85	40	5 (12)	40	15 (37)	20	4 (20)	20	7 (35)
C	2,52	40 60*	17 (42) 30 (50)	40	1 (2)	60	6 (10)	40 45**	17 (42) 19 (42)
D	3,07	40	0	40	0	40	0	20	10 (50)
E	0,25	40° 42°°	0 0	25 40	0 0	40	0 0		

*) Wiederholung 3 Monate später, Ersatz der Trantupfer durch Baumwolltupfer

**) Wiederholung 15 Tage später

°) erste Probenentnahme nach Verschwinden der Klinik im Jan. '89

°°) Wiederholung im Mai '89

Die Untersuchungen und Kontrollen sollten in den prädisponiertesten Tiergruppen erfolgen. Da klinisch von der Ra, anderen Erkrankungen, vor allem der Atemwege (DE JONG 1993) oder Belastungen (NIELSEN u. FOGED 1992) betroffene Tiere eine höhere Prävalenz der Pmt ausbilden, sollten diese bevorzugt zur Probenentnahme herangezogen werden.

Das gebräuchlichste Material der meisten Untersucher zum Nachweis der Pmt sind Nasentupferproben. Diese können sowohl von lebenden, als auch von toten Schweinen (möglichst nur wenige Stunden nach dem Tod der Tiere) entnommen werden. Das Material der verwendeten, biegsamen Baumwoll-, Alginat- oder Transtieltupfer kann die Findungsrate beeinflussen. Bei einer

Entnahme nach dem Brühbad bei der Schlachtung ist die Nachweishäufigkeit verringert (CHANTER et al. 1989). Auch, wenn einige Autoren in ihren Untersuchungen die Tupfer zur Probenentnahme mit steriler Kochsalzlösung befeuchteten (PEDERSEN u. BARFOD 1981, MATSCHULLAT et al. 1994), sollten sie möglichst trocken zum Einsatz kommen, um eine möglichst große Menge von Flüssigkeit aus den Nasen- und Rachensekreten aufnehmen zu können (persönliche Mitteilung, Dr. Marten de Jong, Deventer, 2007). Durch die Nasenlöcher sind sie in Drehbewegungen so weit wie möglich kaudal, möglichst in beide Nasenhöhlen und die ventralen Nasengänge, einzuführen und dort jeweils eine kurze Zeit zu belassen (MATSCHULLAT et al. 1994, RAUTIAINEN u. LAINE 1996). Zur Vermeidung der Kontamination mit anderen Keimen kann sich eine vorherige Reinigung der Nasenlöcher mit Alkohol (PEDERSEN u. BARFOD 1981) erforderlich machen. Dabei besteht aber ebenfalls die Gefahr einer Tupferkontamination. Wo möglich, sollte also darauf verzichtet oder einer trockenen bzw. einer Reinigung mit Kochsalzlösung der Vorzug gegeben werden. Die Entnahme, vor allem von Nasentupfer-, aber auch die anderer Proben, sollte durch unabhängige, erfahrene, eventuell autorisierte Personen erfolgen (DE JONG 2002). NIELSEN et al. (1992) und ACKERMANN et al. (1996) beschreiben eine höhere Findungsrate durch die Nasenlavage. Hierbei werden ca. 20 ml körperwarme Kochsalzlösung in ein Nasenloch des seitlich gelagerten Schweines eingespült und aus dem anderen wieder gewonnen.

Wegen der besonderen Affinität der Pmt zu den Tonsillen bevorzugen TOWNSEND et al. (2000) diese als Probenmaterial. ACKERMANN et al. (1994) erzielten aus Tonsillen einen häufigeren und höheren Pmt-Nachweis, als von der Nasenschleimhaut. DE JONG u. BRAAMSKAMP (1994) halten die Tonsillinentnahme bei selektierten Sauen am Schlachtband für ein nutzbares Verfahren des Herdenmonitorings. Sie verweisen aber auf organisatorische Probleme. Von den frisch, steril geschnittenen oder nach außen gepressten Krypten kann das Material mit Tupfern entnommen werden. Alternativ bieten sich Tonsillientupferproben an, die aus dem tiefen Pharyngealraum am lebenden, fixierten Tier mit speziellen Hilfsmitteln gewonnen werden können (SCHIMMEL 1992, DE JONG 2000).

Die Gewinnung anderer Organteile, wie Trachea und Lunge (ACKERMANN et al. 1996) kann das Untersuchungsmaterial ergänzen. SCHIMMEL (1992b) hält diagnostische Sektionen, die auch GEIGER et al. (1992) praktizierten, für den sichersten Weg eines möglichen Nachweises. Die in den Arbeiten benannten Stichprobenumfänge dürften allerdings nur Ausnahmefällen, nicht aber der Routinediagnostik vorbehalten sein.

Da die Zeit und die Lagerung zwischen der Entnahme und der weiteren Bearbeitung des Probenmaterials von maßgeblicher Bedeutung sind (CHANTER et al. 1989), muss der Transport unverzüglich und möglichst gekühlt (4 - 8 °C) erfolgen (DE JONG u. BRAAMSKAMP 1994). Diese Voraussetzungen halten LUKSCH et al. (1999) und SCHNÜLL (2001) auch für die Untersuchung mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) für erforderlich. Bei unvermeidbaren Verzögerungen, in jedem Fall über 6 Stunden, sollten die Proben in Amies- oder Stuart-Transportmedium gelagert werden (MARTELLI et al. 1994, RAUTIAINEN u. LAINE 1996). In ungeeigneten Medien, z. B. bei Aktivkohlezusätzen, können Pmt ihre Eigenschaften verändern und ihr Toxinbildungsvermögen verlieren (persönliche Mitteilung, Dr. Matthias Seelmann, Rostock, 2002). Für LUKSCH et al. (1999) stellen die fehlerhafte Entnahme, Schmierkontaminationen, unsachgerechter Transport, z. B. in großer Hitze, und Probenverwechslungen kritische Punkte für korrekte Untersuchungsergebnisse dar.

Kultur

Zur Charakterisierung und Beurteilung der Eigenschaften von Pm ist es zunächst notwendig, diese zu isolieren und zu vermehren.

Das Kulturmedium mit breiter Nutzung sind feste Nährböden, die u. a. Fleischextrakte, Pepton (MATSCHULLAT et al. 1994), Trypton oder Sojaproteine (DE JONG u. BORST 1985) enthalten können. Infrage kommen auch der Columbia- (BARTUSSEK et al. 2001) oder, wie z. B. für Sensitivitätsprüfungen, der Mueller-Hinton-Agar (AVRIL et al. 1990, FLAUS u. TAN 1994). Zur Erfüllung der hohen Wachstumsansprüche von Pm sind diese Nährböden mit 5 - 10 % Schaf- oder Pferdeblut (MATTSON u. SÖDERLIND 1990, TOWNSEND et al. 2000) angereichert. Um Pm selektiv in ihrem Wachstum zu fördern und die antagonistische Kontaminantenflora zu hemmen, werden den Nährböden verschiedenste antimikrobielle Substanzen in unterschiedlichsten Konzentrationen (Amikacin 2 µg, Amphotericin 2,25 µg - 5 µg, Bacitracin 2,5 - 5 µg, Clindamycin 0,75 µg, Gentamycin 0,75 - 2,25 µg, Lincomycin 2,5 µg, Neomycin 2,5 µg, Vancomycin 4 µg / ml) zugesetzt. IORDACHE et al. (1980) sprechen nichtselektiven Nährböden eine höhere Ausbeute zu. Dagegen beklagen AMIGOT et al. (1998) die schwierige Isolation von Pm selbst auf Selektivnährböden wegen der Kontaminanten. DE JONG (1993) bescheinigt dem Zusatz von Clindamycin, Gentamycin, Vancomycin und Amphotericin eine Verdopplung der Sensitivität und DE JONG u. BORST (1985) fügen ihrem Selektivmedium zur parallelen Anzucht von Pm und Bb zu diesen noch K-Tellurit bei. In der Routinediagnostik aber hat sich der Zusatz von 2 µg Neomycin und 3,5 µg Bacitracin bewährt (MATTSON et al. 1992). Die Subkultur zur Vereinzelung der Kolonien mit speziellen Ausstrichtechniken (CARTER u. RUNDELL 1975, IORDACHE et al. 1980) kann auf gleichen Medien oder auf Dextrose-Agar erfolgen (ACKERMANN et al. 1994). Die Kulturen werden i. d. R. 24 Stunden lang bei 37 °C aerob inkubiert. Eine Verlängerung der Inkubationsdauer um weitere 24 Stunden kann die Findungsrate erhöhen (persönliche Mitteilung, Dr. Marten de Jong, Deventer, 2007).

Durch den Ansatz auf den beschriebenen festen Nährböden ist die Reisolation von Pm auch unter Versuchsbedingungen nicht immer möglich (IORDACHE et al. 1980, KIELSTEIN et al. 1986). Um die Wachstumsrate zu erhöhen, erfolgte früher die inzwischen ethisch fragwürdige Anreicherung über Mäusepassagen (PEDERSEN u. BARFOD 1981, CHANTER et al. 1989, LIU u. PENG 1990). Dazu wurde das Primärmaterial in Trypton-Soja-Bouillon ausgewaschen und von dieser Lösung mit oder ohne 4-stündige Inkubation bei 37 °C Labormäusen 0,1 bzw. 0,2 ml intraperitoneal appliziert. Die Organe (Herzblut, Leber, Milz) der verendeten oder nach 5 Tagen getöteten Mäuse wurden auf den oben beschriebenen Nährböden oder semifestem Rindfleischextraktagar (0,75 % Agar) ausgestrichen (SCHÖSS u. OBERWALDER 1978). Nach TOWNSEND et al. (2000) ist bei der Mauspassage eine Vermehrung von Kontaminanten, wie β -hämolisierenden coliformen Keimen, *E. coli*, *Klebsiella* spp. und *Pseudomonas* spp. nicht auszuschließen. Allein durch kulturelle Methoden konnten sie nur zwei Drittel der im Untersuchungsmaterial tatsächlich präsenten Pm nachweisen. Erst nach dem Vorliegen molekulargenetischer Analyseergebnisse und der daraufhin eingeleiteten gezielten Suche gelang die Isolation auch aus den übrigen Proben.

Zur weiteren Bearbeitung kann es notwendig sein, Primär- oder Subkulturen oder auch einzelne Kolonien und Klone in flüssigen Nährmedien, wie Hirn-Herz- (CARTER u. SUBRINTO 1973, MAGYAR u. KOVÁCS 1996), Fleischextrakt-Pepton- (MATSCHULLAT et al. 1994), Lemco- (ERLER et al. 1993) oder Trypton-Soja-Bouillon (PEDERSEN u. BARFOD 1982, TOWNSEND et al.

2000) oder Teildefiniertem Medium (ERLER et al. 1993) anzureichern. Diese Lösungen werden 24 - 72 Stunden bei 37 °C bebrütet. Zur Hemmung von Kontaminanten sind ihnen oft die oben genannten antimikrobiellen Wirkstoffe zugesetzt (IORDACHE et al. 1980).

Für eine umfassende Charakterisierung der Isolate sind manchmal aufwendige Vorarbeiten erforderlich: So werden u. U. von Einzelkolonien der ersten Subkulturen dekadische Verdünnungsreihen bis zur Stufe 10^{-9} in flüssigen Nährmedien erstellt. Die Verdünnungen 10^{-7} bis 10^{-9} sind auf feste Nährmedien auszustreichen und nach der Inkubation wird eine Einzelkultur der letzten bewachsenen Platte wieder als Ausgangsmaterial der nächsten Verdünnungsreihe entnommen. Nach 3-maliger Wiederholung dieser Prozedur können 5 - 10 Klone für die folgenden Analysen ausgewählt werden (IORDACHE et al. 1980). Auch hierbei ist zu beachten, dass die Keime bei fehlerhafter Bearbeitung unter dem Einfluss der künstlichen Nährmedien und Hemmstoffe ihre Charakteristika verändern können oder einige Eigenschaften nur unter bestimmten Bedingungen ausprägen. Da beispielsweise auch 1 - 2 Mäusepassagen nicht immer erfolgreich waren, um die Kapseln (CARTER 1955) wieder zu entwickeln, können dazu mindestens 7 Passagen auf einem speziellen Yeastextrakt-Proteose-Peptone-Cystin-Medium, das darüber hinaus Glukose, Saccharose, Natriumsulfit, Kaliumdisulfit und pulverisierten Agar enthält (IORDACHE et al. 1980), notwendig werden.

Identifizierung, Charakterisierung und Differenzierung

Charakterisierung und Differenzierung dienen der Einschätzung der Pathogenität und Virulenz der isolierten Pm. Außerdem ermöglichen sie, epizootiologische Zusammenhänge zu erkennen. Dazu ist es zunächst erforderlich, die angezüchteten Keime als Pm zu identifizieren.

Dies kann primär durch die Beurteilung morphologischer Merkmale, wie der Wuchsform (CARTER 1955, SCHIMMEL 1987), der Fluoreszenz bei Henry'scher Beleuchtungstechnik (IORDACHE et al. 1980) oder dem Nachweis der typisch bipolaren Kapseln mit der Färbung nach Gram oder Löfflers Methylenblau erfolgen (SCHÖSS u. OBERWALDER 1978). Darüber hinaus werden andere phänotypisch physiologische Eigenschaften, wie das Fermentationsvermögen, die Bildung charakteristischer Stoffwechselprodukte und die Fähigkeit zum Bewuchs selektiver Nährböden der gebildeten Kolonien zur Identifizierung herangezogen (siehe 2.4). Während die Zuordnung der Isolate zur Spezies Pm damit sicher erfolgen kann, sind die Möglichkeiten der Differenzierung einzelner Stämme auf diesem Weg offenbar begrenzt (KAVANAGH 1994).

Eines der wesentlichsten Unterscheidungsmerkmale der Pm ist der Typ ihres Kapselantigens. Dabei wurde in der Praxis klar, dass Präzipitation und Kapselschwelltest, vor allem für mukoide Formen, Unzulänglichkeiten für die Routinediagnostik besitzen (CARTER 1955). Zunächst erleichterte die Hämagglutination mit spezifischen Antisera die Typisierung erheblich. Dazu wurden humane Erythrozyten der Blutgruppe 0 mit dem fraglichen Bakterienextrakt durch 2-stündige Inkubation bei 37 °C sensibilisiert (GRUND et al. 1990). Die Präparation spezifischer mono- oder polyklonaler Hyperimmunseren gelang durch die planmäßige Immunisierung von Kaninchen oder Labormäusen (KAMP et al. 1990) unter teilweiser Verwendung des Freund'schen Adjuvans. Die dazu benötigten Kapselantigene wurden durch Wärmedenaturierung (56 °C, 30 min.) oder Extraktion mit formalinierter NaCl-Lösung (IORDACHE et al. 1980, BECHMANN et al. 1992) freigesetzt. Eine positive Reaktion und damit die Zugehörigkeit zu den bestimmten Kapseltypen ist aus einer Agglutination der Erythrozyten nach 2 Stunden oder am nächsten Tag ablesbar (CARTER 1955). Eine weitere Vereinfachung stellen der Nachweis der Hyaluronsäurebildung und damit die Existenz des

Kapseltyps A da. Fragliche Kolonien wachsen in der Nähe eines quer zur Kultur ausgestrichenen, Hyaluronidase produzierenden *Staphylokokkus aureus*-Stammes oder enzymgetränkter (25 µl) Filterpapierplättchen (AMIGOT et al. 1998) sichtbar spärlicher (CARTER u. RUNDELL 1975, SCHIMMEL 1992a). Für den Kapseltyp D ermöglicht die kräftig flockige Ausfällung mit neutraler Acriflavin-Lösung die vereinfachte Zuordnung (CARTER u. SUBRANTO 1973, SCHIMMEL 1992a, MATSCHULLAT 1994, HEER et al. 1995, LICHTENSTEIGER et al. 1996).

Außenmembranproteine lassen sich durch die Ultraschall- und anschließende Behandlung des Sediments mit Na-Blaurylsarkosinat (BECHMANN et al. 1992), die somatischen O-Antigene durch die 16 – 18-stündige Inkubation bei 37 °C mit 1n Salzsäurelösung darstellen. Die serologische Differenzierung ist möglich (IORDACHE et al. 1980). Außerdem kann die Typisierung der O-Antigene durch einen Geldiffusionspräzipitationstest erfolgen (MAGYAR u. RIMLER 1991).

Ein weiteres, auch praktisch relevantes Unterscheidungskriterium ist das Resistenzverhalten der Stämme gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen. Dieses wird über die Bestimmung der minimalen Hemmstoffkonzentrationen (MHK) der Wirkstoffe für die betreffenden Stämme analysiert. Dazu werden Lösungsreihen der Wirkstoffe erstellt und 1 ml jeder Lösung in 20 ml Müller-Hinton-Agar mit 5 % Pferdeblut gegossen. Mit diesem Verfahren ist es möglich, nicht nur die Wirkung jedes Stoffes für sich, sondern auch verschiedenste Kombinationen zu testen (FLAUS u. TAN 1994). PERRIN u. NICOLET (1992) empfehlen das Cobas Mikrosystem zur Bestimmung der Wirkstoffresistenzen, das das Vorliegen der Ergebnisse schon nach 6 Stunden ermöglicht. USHIJIMA et al. (1996) entdeckten Plasmide resistenter Pm-Stämme, die die Unempfindlichkeit gegen verschiedene Wirkstoffe kodierten.

Die Frage nach dem entscheidenden Pathogenitätsmerkmal für die Ausprägung der Rhinitis atrophicans aber, der Fähigkeit zur Toxinbildung von Stämmen und der Menge des gebildeten Toxins, kann weder mit physiologischen und biochemischen Untersuchungen, noch mit numerischen Analysen zur Stammdifferenzierung beantwortet werden (LICHTENSTEIGER et al. 1996, DONNIO et al. 1999). Dazu sind spezielle Methoden erforderlich (2.9.4).

In den letzten Jahren sind eine Reihe Immuno- und molekulargenetischer Arbeitsmethoden entworfen und weiterentwickelt worden. Diese ermöglichen die Erkennung und Differenzierung der Bakterienstämme bis in ihre molekularen Strukturen und in die ihres Genoms. Dazu gehören die Immunelektrophorese und das Immunoblotting (LAX u. CHANTER 1990), die nichtradioaktive Platten-Hybridisation (TANEDA et al. 1994), die PCR (siehe 2.9.4), die Restriktive Endonuklease-Analyse (REA), die Ribotypisierung, die Pulsfeld-Gel-Elektrophorese (PGE), das Genklonen, die charakterisierende und die rekombinante Proteinexpression, die Mutagenese, die Plasmid- und Phagenanalyse, die Erstellung von Genomkarten und andere (HUNT et al. 2000). Die immunologischen Methoden beruhen auf der Sichtbarmachung hochspezifischer, bis in die molekularen Strukturen reichender Antigen-Antikörperkomplexe und damit dem Nachweis ganz definierter Eigenschaften. Oft geht der Anwendung dieser Methoden eine partielle Digestion der DNA mit speziellen enzymatischen Schnittwerkzeugen und die Selektion der spezifischen Fragmente voraus. Dabei finden die Gradientenzentrifugation oder elektrisch geladene Membranen und sensible Indikatorsysteme ihre Anwendung. Auch die Ribotypisierung beruht auf der restriktiven enzymatischen DNA-Digestion und der Agargelelektrophorese zur Separation der Spaltprodukte.

Die Anwendung der PCR erlaubt die hochstandardisierte Vervielfältigung des Genoms vor der Analyse und damit eine an Genauigkeit kaum zu übertreffende Differenzierung der Stämme anhand

ihres Genoms. Neuerdings steht eine auf wiederholter Sequenzierung basierende PCR (REP-PCR) zur Unterscheidung eng verwandter Pm-Stämme zur Verfügung (TOWNSEND et al. 2000).

CHEN et al. (2002) nutzten die Sequenzen der 16S ribosomalen DNA und die repetitive extragenetische palindromische Sequenz-PCR (epREP-PCR) zur Charakterisierung von Pm-Stämmen bei verschiedenen Tierarten und beim Menschen. Sie fanden enge Korrelationen zwischen der 16S rDNA-Sequenz, einem Marker für kleine erhaltene Regionen des Genoms, der epREP-PCR, einem Marker für große Portionen des Genoms und den biochemischen Eigenschaften. Außerdem konnten sie Zusammenhänge zwischen der klinischen Präsentation und den taxonomischen Gruppen nachweisen.

2.9.4 Nachweis des Toxinbildungsvermögens

Der Nachweis des Toxinbildungsvermögens der Stämme von Pm kann über das Toxin und seine Wirkungen selbst, über das Aufdecken der genetischen Anlagen zur Expression dieses Merkmals oder über die Detektion der spezifischen, als Reaktion auf den Kontakt mit dem Toxin gebildeten Antikörper erfolgen.

Nachweis des Toxins und seiner Wirkungen

Tierversuche

Zum Nachweis des Toxins stehen verschiedene Testsysteme zur Verfügung. Mit der Entdeckung als spezifisches Pathogenitätsmerkmal wurden seine Wirkungen zunächst in Tierversuchen beobachtet, die auch das erste System der Routinediagnostik darstellten (DE JONG u. AKKERMANS 1986, JOLIE et al. 1990, KAMPS et al. 1990). Dazu war es notwendig, isolierte Pm-Einzelkolonien 18 - 72 Stunden bei 37 °C in flüssigen Nährmedien, ggf. auf einem Rotationsschüttler, zu kultivieren und die dazu befähigten Stämme zur Toxinbildung zu veranlassen. Nach einer Zentrifugation der Kultursuspension (PEDERSEN u. BARFOD 1981, KAMP et al. 1990) oder des Überstandes nach vorausgegangener Ultraschallbehandlung (ERLER et al. 1993) wurde das erhaltene Substrat durch Membranfilter mit Porenweiten von 0,45 bis 0,22 µm steril filtriert. Gelegentlich erfolgte eine Konzentration durch die Ultrafiltration (KAMP et al. 1990) bzw. eine Reinigung durch die Affinitätschromatographie (FOGED et al. 1989). Zur Quantifizierung der gebildeten Toxinmenge konnten vor dem eigentlichen Test Verdünnungsreihen erstellt werden (ERLER et al. 1993).

Meerschweinchenhauttest: Zum Nachweis der Toxizität wurden 0,2 ml des Substrates intradermal in die enthaarte Haut von Meerschweinchen appliziert. Die Hautläsionen konnten nach 24 und 48 Stunden beurteilt werden. Eine positive Reaktion war durch eine Schwellung, Hyperämie, oft mit nekrotischem Herd im Zentrum, mit einem Durchmesser von mindestens 13 (ERLER et al. 1993) bzw. 20 mm Durchmesser gekennzeichnet (PEDERSEN u. BARFOD 1981). Einige Autoren bewerteten lokale Reaktionen mit einem Durchmesser von mindestens 10 mm bereits als positives Ergebnis (persönliche Mitteilung, Dr. Marten de Jong, Deventer, 2007).

Mäuseletalitätstest: Dabei erfolgte die intraperitonäale Applikation von 0,1 ml des gewonnenen Substrates der fraglichen Pm-Kultur an Mäuse verschiedener Laborstämme. Bei Anwesenheit der Toxine verendeten die Mäuse innerhalb von 5 Tagen unter dem pathologischen Bild einer Intoxikation (KAMP et al. 1990, KAMPS et al. 1990, KAVANAGH 1994, LICHTENSTEIGER et al. 1996) ohne

die für das Bordetella bronchiseptica-Toxin beobachtete Milzmassenreduktion (KIELSTEIN et al. 1986). Die Menge bzw. Konzentration der gebildeten Toxine konnte in minimalen letalen Dosen (Dosis minimalis letalis) für Mäuse (DML_{Maus}) / ml bestimmt und angegeben werden (BREUER u. SCHIMMELPFENNIG 1990).

Zellkulturtest

Eine Weiterentwicklung stellte der Toxinnachweis in Zellkulturen dar (GOODWIN et al. 1990a, KAMPS et al. 1990, KAVANAGH 1994, MATSCHULLAT 1994): Primäre trypsinierte embryonale (fetale?) bovine (EBL) (ALT et al. 1993, ERLER et al. 1993) oder fetale feline (FFL) Lungenzellen, Osteoblasten, embryonale (?) bovine Turbinatenzellen (AMIGOT et al. 1998) oder permanente toxinempfindliche Epithel- oder Verozellen (PENNINGS u. STORM 1984, BECHMANN u. SCHÖSS 1991) wurden in Eagle's minimal essentiell Medium (EMEM) mit dem Zusatz von 5 - 10 % fetalem Kälberserum und ggf. Gentamycin und anderen Antibiotika zur Hemmung von Kontaminanten in einer Konzentration von $2 - 3 \times 10^5$ Zellen / ml mit 0,05 ml in 96-Kavitäten-Mikrotiterplatten oder mit 1 ml in 24-Well-Gewebskultur-Platten mit flachen Böden kultiviert. Nach einer 24 bis 48-stündigen Inkubation bei 37 °C und einer angefeuchteten Atmosphäre mit 5 % Kohlenmon- oder -dioxid hatte sich ein Monolayer-Zellkulturrasen gebildet. Durch den Zusatz von 0,05 mM Methylisobutylxanthin oder den Ersatz des EMEMs ohne fetales Kälberserum konnte die Toxinsensibilität der Zellen weiter erhöht werden (PENNINGS u. STORM 1984).

Die notwendige Aufbereitung der zu prüfenden Kulturen war, wie oben für den Tierversuch erläutert, durchzuführen. Der Test erfolgte durch die Zugabe von 50 (96 Wells) bzw. 200 (24 Wells) µl des vorbehandelten Substrates und die weitere Inkubation der Kulturen unter den beschriebenen Bedingungen. Täglich, bis zu einer maximalen Bebrütungsdauer von 5 Tagen, wurde das Wachstum der Zellrasen mit einem Invertmikroskop beurteilt. Der gemeinsame Ansatz von Zellkultursuspension und Testlösung war prinzipiell möglich, wobei nach diesem Vorgehen die Ablesungen am 5., 6. und 7. Tag durchgeführt wurden (BECHMANN u. SCHÖSS 1991). In negativen Fällen zeigten die Kulturen auch noch am Ende der Tests dichte unbeschädigte Rasen. Die Anwesenheit von Toxinen war durch ihr gehemmtes Wachstum, ersichtlich aus dem Auftreten abgekugelter Zellen mit Karyorexis und der Bildung mehrerer Ausläufer, die sich zu netzartigen Strukturen, den sogenannten Synzytien, verbinden, charakterisiert (ERLER et al. 1993). Bei hohen Toxinkonzentrationen konnte der Zellrasen partiell oder vollständig von der Wandung der Kulturgefäße abgelöst sein. BECHMANN u. SCHÖSS (1991) konnten die Wirkung eines 1990 von Schimmelpfennig gewonnenen Toxins mit 400 DML_{Maus} / ml noch bei 200 000-facher Verdünnung nachweisen und diagnostisch verwerten.

Immunologische Nachweisverfahren

Neben den beschriebenen Wirkungen auf biologische Systeme und Lebewesen kann auch die immunologische Eigenschaft des Toxins, die Bildung von Antigen-Antikörperkomplexen mit spezifischen Antikörpern, zum diagnostischen Nachweis herangezogen werden. In der Praxis wird dieses Prinzip auf verschiedenen Trägersystemen wie Gelen, Membranen oder Mikrotiterplatten ausgeführt. Auf ihm und der Sichtbarmachung der spezifisch gebildeten Komplexe durch enzymatisch katalysierte Farbreaktionen beruhen eine Reihe immunologischer Testverfahren, wie die Immunelektrophorese (FRANDSEN et al. 1990, LAX u. CHANTER 1990), die Immunodiffusion (KAMP et al. 1990), die Western-Blot-Analyse (KAMP et al. 1990), der Dot-Blot- (ACKERMANN et al. 1994) oder der Enzym-Immuno-Assay (EIA) (ERLER et al. 1993).

Auch MAGYAR u. RIMLER (1991) nutzten markierte monoklonale Antikörper als detektives System ihres Dot-Blot-Assays. Sie inkubierten die fraglichen Kulturen mit den verdünnten, markierten monoklonalen Antikörpern und deckten die Antikörperbindungen mit einer Hydrogenperoxidsubstratlösung auf.

Das gleiche Prinzip liegt den Enzym-Linked-Immunosorbent-Assays (ELISA) zugrunde. Dabei werden die Kavitäten von 96-Well-Mikrotiterplatten entweder schon seitens der Hersteller (MATTSON u. SÖDERLIND 1990) oder im Rahmen des Testablaufs (FOGED et al. 1988) mit monoklonalen Maus-Anti-DNT-Antikörpern beschichtet. Die Ernte der Kulturen von den Nährböden erfolgt durch die Abschwemmung mit 2 ml sterilen Aqua dest.'s (FOGED et al. 1988, BARTUSSEK 2001) oder ELISA-Waschpuffers (ALT et al. 1993). Nach der Inkubation der in die Kavitäten eingefüllten Kolonieextrakte und dem Waschen werden mit Rettichperoxidase markierte Kaninchen-Anti-DNT-Antikörper zugefügt und anschließend durch das chromogene Substrat ersetzt. Die anhaftende Peroxidase katalysiert die enzymatische Umsetzung des Substrates und zeigt durch eine goldbraune Färbung die Präsenz des Toxins an. Das Stoppen der Farbreaktion mit Schwefelsäure beendet den Test, dessen Ergebnis visuell beurteilt oder bei einer Lichtlänge von 492 nm und der Referenzwellenlänge von 650 nm objektiviert gemessen werden kann (MATTSON u. SÖDERLIND 1990). Die Resultate werden in ihrer Relation zum Extinktionswert der in Form einer definierten Toxinlösung mitgeführten Positivkontrolle ausgedrückt (FOGED et al. 1988).

Heute bedient sich die Routinediagnostik zum Nachweis des DNT von Pmt aus bakteriologischen Kulturen auf festen Nährböden in erster Linie eines sogenannten doppelten Antikörper-Sandwich-(Einschritt-)ELISAs (MATTSON et al. 1992, AMIGOT et al. 1998), der als Produkt der dänischen Firma Dakopatts® einen hohen Standard und weite Verbreitung erfahren hat. Dieser zeichnet sich dadurch aus, dass 50 µl eines gebrauchsfertigen Peroxidase konjugierten sogenannten Fab'-Fragments polyklonaler Kaninchen-Anti-DNT-Antikörper zeitgleich mit 50 µl der fraglichen Kolonieextrakte inkubiert werden können. Dieses System zeigte sich sowohl dem Zellkulturtest, als auch dem vorher gebräuchlichen 2-Schritt-ELISA überlegen (MATTSON et al. 1992). Neben seiner hohen Standardisierung mit vergleichbaren Ergebnissen verschiedener Laboreinrichtungen und einem hohen Probendurchsatz von bis zu 1000 Proben je Laborkraft und Tag (FOGED et al. 1990) bietet der ELISA den Vorteil des möglichen Toxinnachweises aus primären Mischkulturen, wenn auch in einigen Fällen durch die Subkultivierung eine höhere Nachweisrate gelingt (DE JONG et al. 1996). Wegen des hochspezifischen Antigen-Antikörper-Prinzips kann weitestgehend auf eine aufwendige, korrekte Gattungs- und Speziesidentifizierung anhand phenotypischer Merkmale verzichtet werden. Dieser Umstand erlangt eine weitere Bedeutung, wenn in einer Kultur neben toxinogenen auch atoxinogene Stämme von Pm auftauchen und begründet die allgemein deutlich höhere Sensitivität. Gegenüber Tierversuchen, Zellkulturtests und immunologischen Verfahren, deren Anwendungen auf die Isolation einzelner Kolonien angewiesen sind, ermöglicht diese selbst die Erfassung einer einzigen Pmt-Kolonie innerhalb einer Mischkultur (ALT et al. 1993, DE JONG 1993).

Aufdeckung der genetischen Potenz zur Toxinbildung

Während die bisher dargestellten Methoden die Expression des Toxins voraussetzen, eröffnen molekulargenetische Analysen die Möglichkeit, Pmt schon anhand ihrer erblichen Merkmalsanlagen als solche zu identifizieren. Dabei basieren alle angewandten Verfahren, wie beispielsweise die Southern-Blot-Analyse (FRANDSEN et al. 1990), der Gensondentest (ERLER et al. 1993), die Kolonie-Blot-Hybridisation (LICHTENSTEIGER et al. 1996), der Slot-Blot-Assay (DONNIO et al.

1999) und auch die PCR (NAGAI et al. 1994, AMIGOT et al. 1998, LUKSCH et al. 1999) auf dem gleichen Grundprinzip: Als Matrize oder Gensonde dient ein doppelsträngiges DNA-Stück, das die gesuchte genetische Sequenz enthält. KAMPS et al. konnten 1990 durch eine Kolonie-Blot-Hybridisation für ein 1502 bp großes aHind III-Fragment im Sektor pKUN 19, im Zentrum des *toxA*-Gens die höchste Spezifität und Reproduzierbarkeit bei der Detektion des Gens nachweisen. Nach der Denaturierung dieses Doppelstranges werden die entstehenden Einzelstränge mit den komplementären Sequenzen der fraglichen Proben hybridisiert. Die Sichtbarmachung erfolgt über die Länge der entstehenden Restriktionsfragmente durch die Anfärbung, z. B. mit Ethidiumbromid oder Silber nach einer Gelelektrophorese oder durch eine Markierung der Gensonden mit radioaktiven Isotopen oder Digoxigenin (HOTZEL et al. 1997).

Bei der PCR werden die nach der Denaturierung entstehenden Einzelstränge mit 2 kurzen Oligonukleotiden, die als Starter- oder Primersequenzen die eigentliche Indikatorsequenz einrahmen, hybridisiert. Ausgehend von jedem dieser Primer erfolgt eine Verlängerung und damit eine Neusynthese des gesuchten DNA-Stranges durch eine DNA-Polymerase, so dass sich nach jedem Reaktionszyklus die Anzahl der vorliegenden DNA-Moleküle und damit auch die der Matrizen verdoppeln (LINZ u. DEGENHARDT 1990). Für die 3 Reaktionsschritte sind jeweils unterschiedliche Temperaturen und Reaktionszeiten notwendig: So laufen die Denaturierung bei ca. 90 °C, die Hybridisierung bei etwa 50 °C und die Polymerisierung bei etwa 70 °C ab. Ursprünglich stand für die Polymerisierung nur das hitzelabile Enzym eines *E. coli*-Stammes zur Verfügung, das nach jeder Denaturierung neu zugesetzt werden musste. Mit der Hybridisierung und Polymerisierung bei 37 °C traten unerwünschte Nebenprodukte auf. Seit 1988 nutzt man bei der PCR das Produkt des thermophilen Bakteriums *Thermus aquaticus*, die sogenannte *Taq*-Polymerase, die den automatisierten, wiederholten Ablauf der 3 Reaktionsphasen in mehreren, meist 20 bis 30 Zyklen in Thermocyclern ermöglicht.

Die Effektivität der Reaktionen wird durch eine Reihe von Parametern, wie die Konzentration der für die *Taq*-Polymerase essentiellen Magnesiumionen, den pH-Wert der Lösungen unter Berücksichtigung des Temperaturkoeffizienten des eingesetzten Tris-Puffers, die Auswahl der Primersequenzen mit einer Länge von ca. 18 - 30 Basenpaaren, die Primerkonzentrationen, die Anzahl der durchlaufenen Zyklen, die für die Spezifität und Stabilität der Reaktionsprodukte mit entscheidenden Reaktionstemperaturen, die Dauer der einzelnen Reaktionsschritte und die Enzymkonzentration bestimmt. Die Fehlereinbaurate der *Taq*-Polymerase ist mit ca. 1 unter 5000 Nukleotiden pro Zyklus sehr klein. Auch Sequenzähnlichkeiten verschiedener Gene lassen sich durch die Auswahl geeigneter Primer ausschließen. Die hauptsächlichsten Gefahren für die Zuverlässigkeit der Methode bestehen in der Kontamination mit Fremd-DNA-Abschnitten. Die Verschleppung von DNA-Fragmenten aus dem Labor bzw. von amplifizierten Produkten in die zu untersuchenden Proben stellen so die Hauptfehlerquellen dar. Diese sind nur durch mitgeführte interne Kontrollen (LUKSCH et al. 1999) aufzudecken. Falsch negative Ergebnisse können aus suboptimalen Reaktionsbedingungen resultieren (LINZ u. DEGENHARDT 1990).

Die Vorteile der PCR sehen NAGAI et al. (1994) und SCHNÜLL (2001) in der schnellen, standardisierten und einfachen Durchführbarkeit, die den Durchsatz von mehr als 96 Proben je Arbeitskraft und Tag ermöglicht, im Vorliegen der Ergebnisse innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme, in nicht über den anderer Untersuchungsmethoden angesiedelten Gesamtkosten, in der hohen Spezifität und Sensitivität und in der Eignung zum Screening ganzer Herden. NAGAI et al. (1994) und LICHTENSTEIGER et al. (1996) bestimmten sowohl die Sensitivität, als auch die

Spezifität der von ihnen praktizierten PCR- durch den Vergleich zu einer Reihe anderer Methoden mit jeweils 100 %. Letzteren gelang es, 150 KBE im Ethidiumbromid gefärbten Gel und auch noch 1 - 4 KBE nach 2xigem Waschen der Tupfer in der Restlösung nachzuweisen, während HOTZEL et al. (1997) Pmt bei einer Konzentration von 20 KBE / ml aus einer künstlich infizierten Nährbouillon mit aufwendiger Silberfärbung detektieren konnten. Auch DE JONG (1993) bestätigt die Verdopplung der Sensitivität des Gesamtverfahrens zur Identifizierung von Pmt durch den Einsatz der PCR. Allerdings traten in seinen Untersuchungen auch 2 von 211 untersuchten Proben auf, für die sich das anfänglich positive Ergebnis weder durch Wiederholungen, noch durch andere Methoden bestätigen ließ. Außerdem konnten 2 % positiver Reaktionen auf der Basis der Einzeltiere und 5 % auf der Probenbasis zwar mit dem ELISA, nicht aber mit der PCR erkannt werden (DE JONG et al. 1996). LICHTENSTEIGER et al. (1996), HOTZEL et al. (1997) und AMIGOT et al. (1998) bescheinigen der PCR übereinstimmend ihre hohe Spezifität auch aus Mischkulturen mit im Atemtrakt angesiedelten Kontaminanten und betonen die Eignung für einen Direkttest aus dem Probenmaterial ohne vorherige bakteriologische Kulturen. Die kritischen Punkte der Qualitätssicherung und Zuverlässigkeit der Ergebnisse sehen LUKSCH et al. (1999) in Fehlern bei der Probenentnahme, beim Transport, beim Probenempfang und in möglichen Kontaminationen bei der Voranreicherung der Proben.

Nachweis spezifischer Antitoxine

Da der Nachweis der spezifischen Antikörper auf ihrer neutralisierenden Wirkung gegenüber definierten Mengen des Toxins der Pmt basiert, können prinzipiell alle Tests, die die Anwesenheit des Toxins oder seine Wirkungen schon in geringsten Konzentrationen anzeigen, wie der Zellkulturtest und der Pmt-ELISA, auch zum Nachweis reaktiver Serum- (BECHMANN u. SCHÖSS 1991) oder Kolostrumantikörper (PEDERSEN u. BARFOD 1981, FOGED et al. 1989) herangezogen werden.

ALT et al. (1993) inkubierten unverdünnte und in 2er Verdünnungsreihen titrierte Seren mit Toxinpräparationen, die sie im Verhältnis 1 : 50 000 für die Zellkultur, und im Verhältnis 1 : 500 für den ELISA verdünnt hatten, und prüften anschließend die verbliebene Toxinaktivität in beiden genannten Systemen wie vorher bereits beschrieben. Nach einer Vorinkubation der fraglichen Seren nutzten FOGED et al. (1990) den gleichen ELISA, den sie vorher zum quantitativen Nachweis des Toxins aus bakteriologischen Kulturen eingesetzt hatten.

BECHMANN u. SCHÖSS (1991) fanden in 104 von 277 Serumproben (= 37,5 %) aus Pmt positiven Beständen Antikörpertiter zwischen 1 : 4 und 1 : 1024, wobei die Anzahl positiver Proben und auch die Werte der höchsten ermittelten Titer zwischen den Beständen stark variierten. Zusätzlich verweist DE JONG (1993) mit seinen Ergebnissen auf erhebliche Nachweisunterschiede zwischen verschiedenen Laboratorien und den eingesetzten Methoden: Während ein Labor A mit der Serumneutralisation und dem Test in der Zellkultur einen Antitoxintiter von 1 : 16 384 bestimmte, fand ein Labor B in der selben Serumprobe nur Konzentrationen von 1 : 320 mit der Zellkultur und 1 : 640 mit dem sogenannten Blocking-ELISA vor.

Während GLAWISCHNIG et al. (1992) der serologischen Untersuchung ebenfalls keine zuverlässigen Ergebnisse zubilligen konnten, erkannten ALT et al. (1996) immerhin 16 % potenziell Pmt infizierter Tiere allein anhand der Antikörpernachweise und hielten die Serologie für wichtig, um längere Zeit vorher infizierte Tiere möglicherweise zu erkennen. In 5001 Blutproben aus 95 als Pmt unverdächtig geltenden Beständen waren für MÜLLER et al. (1996) innerhalb von 3 Jahren keine Antitoxine nachweisbar. Demgegenüber konnten sie aber die Antitoxine in Tieren aus 6 Herden, die Schweine aus

latent infizierten Herkünften zugekauft hatten, noch vor dem Auftreten klinischer Erscheinungen und teils noch vor dem ersten Erregernachweis feststellen. Wie FOGED et al. (1990) schlussfolgerten sie daraus, dass die Serologie eine mögliche „Suchmethode“, ein Hilfsmittel zur Eingrenzung infizierter Bestände sein kann, die aber intensive bakteriologische Untersuchungen nach sich ziehen muss.

In einem interessanten Versuch verabreichten BREUER u. SCHIMMELPFENNIG (1990) 0,02 ml in Phosphat gepufferter Saline gelöstes DNT verschiedener Aktivitäten mit Hilfe eines nadellosen Injektors an Schweine intrakutan in der Nackenregion. 3 Tage nach der Applikation lasen sie die Hautreaktionen ab und beurteilten die An- oder Abwesenheit von Nekrosen als positives oder negatives Ergebnis. Den Durchmesser der Entzündungszone nutzten sie, um positive Reaktionen zu quantifizieren. Negative Ergebnisse werteten sie als Anzeichen der Neutralisation der Testdosis durch die Antitoxine der Tiere. Sie postulierten, dass Schweine ausreichende Antikörper produzieren können, um angemessene Testdosen des DNT in ihrer Haut zu neutralisieren. Zwar hielten sie selbst ihren Test für eine sensitive Methode, Antitoxinträger unter den Tieren zu erkennen, aber offenbar konnte sich das Verfahren in der Praxis nicht bewähren.

Trotz ständig verbesserter diagnostischer Möglichkeiten stellt das sichere Auffinden der Pmt und damit das Erkennen der Gefahr des Ausbruchs der PRa noch immer ein Problem dar. In 20 Betrieben mit klinischen Symptomen der PRa suchten MATSCHULLAT et al. (1994) nach dem Erreger. Während ihnen der Nachweis bei 15,5 % der Proben aus 9 Beständen und Tieren mit deutlicher Symptomatik gelang, erzielten sie in den 11 Beständen mit eher latentem Verlauf trotz einer Verdopplung der Probenanzahl keine positiven Ergebnisse. Auch bei der Sektion und nachfolgenden labordiagnostischen Untersuchung von 37 Schweinen aus 7 seit Längerem bekanntermaßen Pmt infizierten Beständen gelang ihnen der Erregernachweis nur für 2 Herden, dabei jedoch aus 2 klinisch und pathologisch unauffälligen Tieren. DE JONG u. AKKERMANS (1986) verweisen auf die Möglichkeit des zeitgleichen Vorkommens toxinogener und atoxinogener Stämme gleicher Kapseltypen in einer Herde und auf die Notwendigkeit, mehrere Isolate auf ihr Toxinbildungsvermögen zu prüfen. KAVANAGH (1994) empfiehlt, die Laborergebnisse nur unter Berücksichtigung klinischer und pathomorphologischer Befunde zu interpretieren. In den Niederlanden werden unverdächtige Herden erst nach 6 - 9 Bestandskontrollen innerhalb von 2 - 3 Jahren als PRa frei anerkannt. Schon 1988 schlugen PEDERSEN et al. vor, Gesundheitskontrollprogramme auf der Basis klinischer Untersuchungen und Labortests zur regelmäßigen Suche nach Pmt zu installieren.

2.10 Bekämpfung

Die Bekämpfung der PRa kann durch antiinfektive Behandlungen, immunprophylaktische Maßnahmen oder durch die Eradikation der toxinogenen Stämme von Pmt erfolgen. Die Auswahl des jeweiligen Weges und der dazu eingesetzten Verfahren ist von der Zielstellung und der wirtschaftlichen Belastbarkeit der Betriebe abhängig (SCHIMMEL 1992b).

2.10.1 Medikamentöse Behandlung

Im Falle des Ausbruchs der Krankheit in den Beständen kommt für die bereits klinisch oder pathomorphologisch betroffenen Tiere aufgrund der fortgeschrittenen Toxinwirkung jede Behandlung zu spät (DONE 1985, SCHIMMEL 1992b). So erhält eine antiinfektive Einflussnahme jeweils den

Charakter einer Meta- bzw. Prophylaxe. Die Reduktion des ätiologisch bedeutsamen Erregers kann in den Herden einerseits durch die Behandlung der Sauen um die Geburt und in den ersten Lebenstagen der Ferkel und damit durch die Verringerung der Keimausscheidung der Mütter erfolgen. Andererseits kann sie auch durch die medikamentöse Abschirmung der Nachkommen oder die Kombination beider Regime erreicht werden (PEJSAK et al. 1990a, SCHIMMEL 1992b, HEER et al. 1995).

Bis in die 80er Jahre des vergangenen Jahrhunderts war die antiinfektive Behandlung primär auf die vorausgehenden, wegbereitenden Bb-Infektionen gerichtet. Sie erfolgte in erster Linie mit (potenzierten) Sulfonamiden (PEJSAK et al. 1990a). Da durch diese häufig eine unzureichende Wirkung erzielt wurde, tendierten die Behandlungsregime seither mehr zum Einsatz von Tetracyclinen (CAMERON et al. 1980, RUTTER 1981, GOIS et al. 1983a). Die Sensitivität getesteter Pm-Stämme gegenüber diesem Wirkstoff erreichte häufig 100 % (PEJSAK et al. 1990b). HEER et al. (1995) konnten durch die Medikation der Sauen 10 Tage vor bis 5 Tage nach der Geburt mit 300 ppm Tetracyclin-HCl die klinische und pathomorphologische Symptomatik einschränken und beobachteten positive Effekte auf die Lebensstagszunahme. Ähnliche Resultate erreichten PEJSAK et al. (1990a) durch die intramuskuläre Injektionsbehandlung der Ferkel mit 40 mg Oxytetracyclin (OTC) am 1., 8., und 15. Lebenstag. Diese Maßnahme übertraf in ihrer Wirkung eine alleinige Impfung der Sauen. DE JONG u. OOSTERWOUD (1977) setzten die parenterale OTC-Behandlung am 3., 6. und 12. Lebenstag mit einer Futtermedikation von 400 ppm über die gesamte Aufzuchtperiode fort. Innerhalb von 25 Monaten gelang es ihnen so, das Auftreten der Brachygnathia superior zu beseitigen. PIJERS et al. (1989) dokumentierten die höhere in vitro-Effizienz eines anderen Vertreters dieser Wirkstoffgruppe, des Minocyclins (MHK = 0,5 µg / ml), gegenüber dem OTC (MHK = 64 µg / ml). Die Synergie zwischen Tetracyclinen und Lincomycin konnte durch eine Kombination beider Wirkstoffe die notwendige MHK der ersteren für Pm um den Faktor 2 - 4 reduzieren. Die des Lincomycins verringerte sich um das 4 – 8-fache (FLAUS u. TAN 1994).

Effektiv zeigte sich auch die von PEJSAK et al. (1990b) durchgeführte Injektionsbehandlung der Ferkel mit Lincospektin am 3., 6. und 12. (0,5 ml) bzw. 21. Lebenstag (1 ml). Zwischen dem 10. und 100. Lebenstag ergänzten sie diese durch die orale Gabe von 4 ppm Lincomycin und 100 ppm Sulfamethazin.

MARTELLI et al. (1994) wiesen darauf hin, dass Länge und Ablauf des Behandlungsregimes von der klinischen Intensität abhängig zu machen sind. Neben der parenteralen Versorgung der Ferkel mit einem Langzeit-OTC-Präparat am 3., 12. und 21. Tag kombinierten sie bei der oralen Medikation der Sauen das Chlortetracyclin (CTC) mit Tylosin. Wie auch GLATTLEIDER et al. (1996) durch die Futtermedikation mit 1000 ppm OTC und 300 ppm Tylosin konnten sie so die Krankheitssymptome mildern und wirtschaftliche Verluste verhindern. Neue semisynthetische Makrolid-Antiinfektiva wie das Tilmicosin kontrollierten die Progressive Rhinitis atrophicans bereits in einer oralen Konzentration von nur 200 ppm (BÄCKSTRÖM et al. 1992).

Eine einmalige intramuskuläre Applikation von 10 mg eines β -Lactam-Antibiotikums neuer Generation, des Ceftiofurs, bot bei SOLINAC und LE BRIS (1996) schließlich die Lösung der Probleme im Aufzuchtbereich. Dagegen versagten alle anderen, nach in vitro-Testen eingesetzten Wirkstoffe in vivo. Bei GEIGER et al. (1992) kam dieser Wirkstoff ebenfalls erfolgreich zum Einsatz. Auch neue Quinolone, wie Enrofloxacin, Ofloxacin oder Ciprofloxacin, die beiden Letztgenannten mit der höchsten Aktivität gegen Pm, übertreffen die in vitro-Wirksamkeit konventioneller Antiinfektiva wie Tylosin oder OTC um das 25 – 700-fache (HANNAN et al. 1989). Ihre gute in vivo-Effektivität

bei der Bekämpfung der PRa konnte IKOMA (1994) am Beispiel des Enrofloxacins mit 7,5 mg / kg bei Geburt und jeweils 5 mg / kg intramuskulär am 7., 14. und 21. Lebenstag nachweisen. UDOVIČIĆ et al. (1996) bestätigten diese Ergebnisse.

Die Toxinwirkung ist nur in ihrem Initialstadium für eine kurze Zeit durch die Applikation eines Antiserums zu beeinflussen (ROZENGURT et al. 1990). Deshalb hat diese aufwendige Möglichkeit einer Behandlung wenig Aussicht auf Erfolg und in der Praxis keine Anwendung gefunden.

CAMERON et al. (1980) konstatierten einen hohen Anteil resistenter Pm-Stämme und empfahlen die regelmäßige Überprüfung des Resistenzverhaltens, vor allem bei einem routinemäßigen Einsatz. Diese könnte durch das Cobas Mikrosystem erleichtert werden, das PERRIN u. NICOLET (1992) beschrieben. SOLINAC u. LE BRIS (1996) beklagten eine dramatische Diskrepanz des in vitro-Verhaltens mit der in vivo-Wirksamkeit. BLAHA (1993) ermahnte zur Senkung des in Deutschland insgesamt sehr hohen Antibiotika-Einsatzes. Dieser schürt das Misstrauen der Verbraucher gegen die Primärproduktion und ihre Erzeugnisse. Der Autor hob die Notwendigkeit der Verbesserung der Tiergesundheit durch hygienische Maßnahmen hervor.

2.10.2 Prophylaxe

Bestandshygiene

PEDERSEN u. BARFOD (1982) definierten die PRa in ihrer Pathogenese als ein Zusammenspiel von Pmt, den Managementfaktoren und der Abwehrlage der Schweine. HEER et al. (1995) dokumentierten eine gravierende Mitbestimmung des Krankheitsbildes durch das Stallklima, vor allem durch den Luftraum pro Tier, und die allgemeine Sauberkeit. Auch LIESCHKE et al. (1989) wiesen in ihrem Zahlenmaterial einen erheblichen Einfluss der Produktionsbedingungen auf das Ausmaß der Leistungsminderungen durch die Erkrankung nach. FÜLDNER u. HORSCH (1991), die noch Bb für das entscheidende Agens der Ra hielten, berichteten über die Gesunderhaltung von Tiergruppen in einem Großbetrieb ohne eine Vakzinierung. Unter optimalen Haltungs- und Fütterungsbedingungen (thermoisolierte, beheizte Liegeflächen, Isolation klinisch kranker Tiere) blieben die Schweine gesund, während auch gegen Bb geimpfte Tiergruppen unter widrigen Bedingungen an der Ra erkrankten. ELIAS et al. (1992) ermittelten eine 3-fach höhere Nachweishäufigkeit von Pm in niederländischen als in ungarischen Schweinebeständen. Die Ursachen für den daraus angenommenen höheren Infektionsdruck durch diese Bakterienspezies sahen sie in den unterschiedlichen Management-, Futter- und Vermarktungsbedingungen beider Länder.

Faktoren, wie der tiergesundheitliche Gesamtzustand der betroffenen Herde, der Intensitätsgrad der Bewirtschaftung, das Haltungssystem, die Unterbringung, die Belegungsdichte, die Ernährung, durchgeführte Hygienemaßnahmen, Belastungen, wie Transporte und Umstellungen u. a. bestimmen die Erregerausbreitung und das Krankheitsbild (PENNY 1977).

BALLINGER (1992) sah die größten Auswirkungen auf die Entstehung und Ausprägung respiratorischer Erkrankungen durch die Sauenherkunft und das so in die Erzeugerkette eingetragene Erregerspektrum. Vor allem die Ra war in seinen Auswertungen durch eine Verbesserung der Bestandshygiene und die Auswahl der Erzeugerbetriebe beeinflusst. Den Begriff der „Hygieneprogramme“ reduzierte er allein auf variierende Konzepte von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen. So gelang es ihm auch nicht, die Morbiditätsrate durch derartig

verschiedene Programme entscheidend zu verringern. Er schlussfolgerte daraus, dass in seinen Untersuchungen zu viele Risikofaktoren unberücksichtigt geblieben waren. Eine gewisse genetische Prädisposition und die Auswahl eines geeigneten Tiermaterials auf die Prävalenz und Intensität der klinischen und pathomorphologischen Symptomatik (SEIFERT 1970) sind sicher mit in das Kalkül zu ziehen.

In ihrem Challenge-Versuch mit einem toxinogenen Typ A-Stamm stellten BARTUSSEK et al. (2001) keinen Einfluss definiert belastender Stallluftparameter wie 4000 - 5000 ppm CO₂ oder 50 ppm NH₃ auf die erfassten Parameter fest. Dagegen fand KAVANAGH (1994) sehr wohl Nasenmaße in saisonaler Variation vor und machte Haltungsprobleme wie Überbelegung, einfaches Management und schlechte Bedingungen der Absatzferkel für die starke Ausbreitung der Krankheit im Winter verantwortlich. Noch vor dem Greifen der eigentlichen Bekämpfungsmaßnahmen Vakzinierung und Medikation registrierten HEER et al. (1995) positive Effekte. Diese führten sie auf verstärkte Tierverkäufe und die daraus resultierende geringere Belegungsdichte in der Vorbereitungsphase zurück. SEIFERT (1970) ermittelte unter den Nachkommen von Elterntieren mit röntgenologisch diagnostizierbaren Abweichungen des Septum nasi und der Nasengänge eine signifikant höhere Ra-Mortalität als unter denen von Eltern ohne derartige morphologische Veränderungen. BERCOVICH u. DE JONG (1976) konnten allein durch die Selektion von Ferkeln mit schweren Verkürzungen der Oberkiefer oder Verkrümmungen der Kopfachse die wirtschaftlichen, Ra bedingten Verluste reduzieren. SEIFERT (1970) gelang es nicht, wenigstens die hochgradigen, röntgenologisch erfassbaren pathologischen Erscheinungen unter den Elterntieren eines Zuchtbestandes durch die Selektion allein nach adspektorischen Untersuchungsbefunden auszulöschen. Allerdings registrierte auch er sowohl unter den erwachsenen Zuchttieren, wie auch unter den Nachkommen im Vergleich zu anderen Betrieben die niedrigste Frequenz röntgenologisch positiver Befunde. Seine statistischen Berechnungen zur prozentualen Klassenhäufigkeitsverteilung lassen selektive Einflüsse nicht ausschließen. Zur Vermeidung der Kontamination jüngerer Schweine mit Pmt durch die älteren Gruppen empfahlen WALLGREN et al. (1994b) die altersgetrennte Aufzucht von der Geburt bis zur Pubertät.

SCHNÜLL (2001) begleitete ihren Versuch, die Pmt aus dem Zuchtbestand zu eliminieren, mit der Einschränkung des Personenverkehrs, der Installation einer Hygieneschleuse, der Vervollkommnung der Geländeeinzäunung, dem Auslegen von Desinfektionsmatten, dem Aussetzen des Tierzukaufs, einem Belegungsstop und damit einem geburtenfreien Intervall und einer nachzuchtfreien Phase, der räumlichen Trennung der Ferkel von der Sauenherde in der Übergangszeit, einer konkreten Festlegung der Reihenfolge der Arbeitsgänge, der Umstellung des Natursprungs auf die künstliche Besamung, der Durchsetzung eines abteilweisen Alles-rein-alles-raus-Verfahrens und der regelmäßigen Reinigung und Desinfektion im Abferkel- und Aufzuchtbereich, einer regelmäßigen Bekämpfung von Parasiten und Schadnagern sowie der Vervollkommnung der Dokumentation als flankierende Maßnahmen.

Immunprophylaxe

Den Einsatz von Vakzinen zur Bekämpfung der Ra hielt NIELSEN (1990) nur nach vorheriger Reduktion prädisponierender Faktoren für sinnvoll.

Immunprophylaktische Regime bestehen in den meisten Fällen in einer zweimaligen, meist subkutanen Impfung der Sauen in der Mitte der Trächtigkeit und 2 - 3 Wochen vor dem Abferkeln (PEDERSEN u. BARFOD 1982) oder allein in der Hochträchtigkeit im Abstand von 2 (SCHIMMEL

1992, GEIGER et al. 1992, TRIGO et al. 1992), 3 (OSTLE et al. 1994), 4 (PREVOST et al. 1990) oder 6 Wochen (OSTLE et al. 1994, VOETS et al. 1994) zur Reduzierung der Keimbelastung (OSTLE et al. 1994, MAGYAR u. KOVÁCS 1996, UDOVIČIĆ et al. 1996). Diese gelingt jedoch nicht immer (CHANTER u. RUTTER 1990, FÜLDNER u. HORSCH 1991). Die zum Einsatz kommenden Vakzinen gegen die PRa unterscheiden sich teils erheblich in ihrer Qualität, vor allem hinsichtlich ihrer Kapazität, Antikörper gegen das DNT der Pmt zu bilden. Allerdings kommen nur selten zuverlässige Methoden zur Anwendung, die die Schutzwirkung gegen das DNT und gleichzeitig die Reduzierung der Kolonialisierungsvermögens fehlerfrei bewerten lassen (persönliche Mitteilung, Dr. Marten de Jong, Deventer, 2007). Ein weiterhin angestrebter Effekt ist die passive, kolostrale Immunisierung der Ferkel vor der Infektion (BORDING JENSEN 1990). In einem hoch belasteten Milieu kann diese durch die aktive Immunisierung der Ferkel ab einem Alter von 6 oder 12 Wochen (HEER et al. 1995) oder bereits in der 2. Lebenswoche (TRIGO et al. 1992) ergänzt werden. Zur Reduzierung der allgemeinen Erregerausscheidung in der Herde ist auch eine 3x jährliche Impfung des Gesamtzuchtbestandes möglich. Die angestrebte Sicherheit ist in diesem Regime nur dann zu gewährleisten, wenn auch die Jungsauen und -eber jeweils vor der Eingliederung in die produktive Herde fristgerecht 2x mit einer hochpotenten PRa-Vakzine immunisiert werden (DE JONG 2002).

PEDERSEN u. BARFOD (1982) und auch EHSE et al. (1993) wiesen für den alleinigen Einsatz von Bb - Vakzinen die signifikante Verringerung der Ra - Morbidität nach. Da der effektivste Schutz jedoch durch Impfstoffe zu erzielen ist, die sowohl gegen diesen mikrobiellen Wegbereiter, als auch gegen die pathogene Wirkung der Pmt selbst gerichtet sind (KIELSTEIN et al. 1986, VOETS 1990), werden häufig Antigene beider Bakterienspezies in der Konzeption kombiniert genutzt. Lebendimpfstoffe (PEJSAK et al. 1990c, EHSE et al. 1991) bilden die Ausnahme.

Experimentell wurden Vakzinen aus bakteriellen Ganzzell- oder Kapselantigenen, Außenmembranproteinen oder Toxoiden der Pmt getestet. Während Impfstoffe, die Ganzzellen und Kapselantigene enthielten, einen effektiveren Schutz gegen Lungenschäden entfalteten (BECHMANN et al. 1992, ERLER u. SCHIMMEL 1992), ist für die Verhinderung der Konchenatrophien das Vorhandensein von gereinigten Toxoiden essentiell (BORDING JENSEN 1990). So sind diese Fraktionen oft gemeinsam in Adsorbat-Vakzinen eingearbeitet (MARTELLI et al. 1994). Die Vermittlung der Immunität kann mit Aluminiumhydroxid (MAGYAR u. KOVÁCS 1996), ggf. mit Dextran (OSTLE et al. 1994), Ölen (DESCAMP et al. 1990, PREVOST et al. 1990, MAGYAR u. KOVÁCS 1996) oder Paraffin (PEJSAK et al. 1990c) als Adjuvantien in wässrigen Suspensionen verbessert werden.

LAX u. CHANTER (1990) gelang es, nach partieller Digestion des Pmt-Genoms die DNA-Abschnitte, die die Toxinbildung determinieren, in kompetente *Escherichia coli*-Stämme zu transformieren. Die entstehenden Rekombinanten waren zur 10-fachen Toxinproduktion der ursprünglichen Donator-Stämme befähigt. Für einen Rekombinanten-Impfstoff, den sie aus einem hochgereinigten, gut charakterisierten, hochimmunogenen, atoxischen Pmt-Derivat (BORDING et al. 1990) genetisch produzierten, konnten BORDING et al. (1992) nicht nur eine leichtere Herstellung, eine höhere serologische Immunantwort und einen deshalb längeren maternalen Schutz der Ferkel registrieren. Sie konnten auch die gebildeten Impfantikörper von den durch Felderreger initiierten unterscheiden. Die Nachkommen der mit dieser Vakzine behandelten Mütter erreichten das Schlachtgewicht 5 Tage vor denen der Kontrollgruppe, die mit einem konventionellen Toxoid-Impfstoff vakziniert worden waren.

Wie eine Reihe anderer Autoren stellten SCHÖSS et al. (1980) und DE JONG (1993) bewusst die Möglichkeit in Frage, allein durch Behandlungs- und Impfmaßnahmen die Infektionen mit Pmt und die klinischen Erkrankungen sicher zu verhindern. Die Sanierungskonzepte, die HEER et al. (1995) beschrieben, bezogen sich deshalb allein auf die klinische und pathomorphologische Symptomatik, nicht aber auf die Abwesenheit der Erreger in den Beständen. Sie erreichten zwar die Stabilisierung der tierischen Leistungen und verhinderten die wirtschaftlichen Schäden, konnten damit aber die potenzielle Gefahr eines Neuausbruchs nicht abwenden.

2.10.3 Sanierung / Tilgung / Eradikation

Die einzige Möglichkeit, den Ausbruch der PRA auf Dauer sicher zu verhindern, stellt die Tilgung ihres Erregers, der Pmt aus den Beständen dar. Da auch aus Einzeltieren der Erreger weder durch eine Medikation, noch durch Impfungen sicher und restlos zu eliminieren ist, bleibt nur der Weg der Merzung der Keimträger.

Gesamtbestandsaustausch

Lange Zeit erlaubten die diagnostischen Möglichkeiten nicht, infizierte Tiere als solche zu erkennen (SCHÖSS et al. 1980), zumal nur bedingte Kenntnisse über das entscheidende ätiologische Agens und die Pathogenese vorlagen (SCHÖSS 2001). Deshalb sah man sich gezwungen, den gesamten Bestand auszutauschen. Der Wiederaufbau erfolgte nur aus Tieren, die den Erreger, den man nicht sicher zu definieren wusste, mit hoher Sicherheit nicht beherbergen konnten (SCHÖSS et al. 1980, PLONAIT 1990). Prinzipiell gab es 3 Möglichkeiten, solche Tiere bereitzustellen: 1. durch das SPF (specific pathogen free)-Verfahren, 2. aus Herkunft, die über lange Zeit durch zentrale Organe, wie beispielsweise Tiergesundheitsdienste, überwacht worden waren und daraus als PRA unverdächtig galten, oder 3. durch ein Frühabsetzen der Ferkel nach immunprophylaktischer und medikamentöser Vorbereitung der Mütter zur Minimierung ihrer Erregerausscheidung.

Das SPF-Verfahren ermöglicht den Erhalt des bereits erreichten Zuchtpotenzials im Bestand. Dazu werden Erreger freie Zuchtferkel durch eine Hysterektomie (in Ausnahmen eine Sectio caesarea) unter sterilen Kautelen entwickelt. Eine kolostrumfreie, ortsgetrennte Aufzucht unter Laborbedingungen sichert den angestrebten spezifisch erregerfreien Status. In der Regel wird neben der Freiheit von Pmt auch die Abwesenheit von *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Brachyspira* spp. und Parasiten erreicht. Dennoch ist das Verfahren für Einzelbestände zu aufwendig. Deshalb werden primäre SPF-Sauen in speziellen Betrieben vermehrt und dann zur Repopulation von Empfängerbetrieben als SPF-Tiere der n-ten Generation abgegeben. Problematisch ist dabei der Schutz vor Reinfektionen und die kontinuierliche Kontrolle des Gesundheitsstatus. Die genannten Erreger sind selbst mit den heute zur Verfügung stehenden Methoden (siehe 2.9) nur schwer zu diagnostizieren. So ist eine Reinfektion oft erst nachträglich, indirekt und nur mit Wahrscheinlichkeit feststellbar. Die Erregerverbreitung ist nicht sicher ausgeschlossen (PLONAIT 1990). Nach einer Reinfektion der SPF-Lieferherden mit einem oder mehreren der vorher ausgeschlossenen Erreger können diese Bestände in gesonderten Gruppen, wie im dänischen SPF-Programm demonstriert, geführt werden. Sie können dann für Teilsanierungen genutzt werden, worunter die Tilgung einiger bestimmter Erreger zu verstehen ist.

Im freiwilligen „Verfahren zur Verhütung und Bekämpfung der Rhinitis atrophicans“ standen 1971 - 1977 in Niedersachsen keine SPF-Zuchttiere zur Verfügung. Deshalb war man dort gezwungen, die benötigten Zuchtschweine aus 2 großen Herdbuchzuchten oder „unverdächtigen“ Betrieben

überregionaler Zuchtunternehmen, möglichst jeweils nur aus 1 Herkunft, zuzukaufen. Die Lieferbestände wurden vorher langfristig und regelmäßig durch den Schweinegesundheitsdienst (SGD) überwacht. Das Verfahren lief nach den folgenden Prinzipien ab: Nach der klinischen und pathologisch-anatomischen Feststellung der Ra durch den SGD wurde der gesamte Bestand gemerzt. Nach gründlicher Reinigung und Desinfektion wurden Zuchtschweine aus den oben genannten Herden mit finanzieller Unterstützung der Tierseuchenkasse (siehe auch 2.8) eingestallt. Die Hilfe war an die Verpflichtungen geknüpft, auch künftig benötigte Schweine ausschließlich aus diesen gleichen Betrieben zu beziehen. Für die Überwachungsfrist durch den SGD von drei Jahren war der Verzicht auf spezielle Medikationen und Impfungen gegen die Ra vorgeschrieben. Die Kontrolle dieser Forderungen war schwierig. Die Problematik der Überwachung der Lieferbetriebe bestand darin, dass sich die Diagnostik jener Zeit noch allein auf klinische und pathologisch-anatomische Untersuchungen beschränken musste. Daraus resultierten natürliche Verzögerungen einer sicheren Statusbestimmung und ein entsprechend hohes Reinfektionsrisiko (SCHÖSS et al. 1980).

Mit dem Frühabsetzen unter Medikation (medicated early weaning - MEW) können unter speziell geschaffenen Voraussetzungen Nachkommenspopulationen mit gleichgutem Gesundheitsstatus wie durch das SPF-Verfahren gewonnen werden (PLONAIT 1990). Das genetische Potenzial bleibt erhalten. Die Sauen des Ursprungsbestandes ferkeln unter einem mehrfach initiierten Impfschutz gegen spezielle virale und bakterielle Erreger und während akarizider, anthelmintischer und antibakterieller Behandlung ab. Die nach 5 Tagen abgesetzten, ortsgetrennt und isoliert aufgezogenen Zuchtferkel bilden die Basis für den Bestandsneuaufbau. Die Probleme möglicher Reinfektionen entsprechen denen der obigen Verfahren.

Gewinnung Pmt freier Nachkommen

Im Jahre 1992 unternahmen GEIGER et al. in einem Jungsauenvermehrungskomplex den Versuch, die Pmt aus den Verkaufspartien zu eliminieren. Das 3-Stufen-System zur Produktion PRa freier Jungsauen bestand aus 3 kombinierten Zucht- und Mastherden mit jeweils 500 Sauen zur Ferkelproduktion (Stufe I), einer ortsgetrennten Aufzucht für die weiblichen Absetzferkel (Stufe II) und einem wiederum fern gelegenen Jungsauenaufzuchtstandort (Stufe III). Es war zuvor durch einen Seiteneintrag infiziert worden. Neben klinischen Symptomen in der Stufe I gelang hier auch der Erregernachweis. Während des Verfahrens wurden die Sauen in der 4. und 2. Woche ante partum u. a. gegen die Serotypen A und D von Pm geimpft und 3 - 4 Tage vor der Geburt mit 500 mg Ceftiofur intramuskulär behandelt. Die Ferkel erhielten am 1. Lebenstag 10 und am 5. Tag 20 mg Ceftiofur intramuskulär, bevor die weiblichen Zuchtferkel am 7. - 10. Tag selektiert und nach der Applikation von nochmals 20 mg Ceftiofur zur Absetzferkeleinheit transportiert wurden. Ca. 5 Tage nach dem Absetzen wurden sie nochmals mit 30 mg Ceftiofur intramuskulär behandelt. In einem Alter von ca. 10 - 12 Wochen und mit 35 - 40 kg erreichten sie den Jungsauenaufzuchtbestand. Die Wirksamkeitskontrolle des Verfahrens erfolgte durch Nasentupferproben, die Beurteilung von Nasenmuschelveränderungen nach Sektionen und Selektionsschlachtungen in den Stufen II und III, histologische Untersuchungen und die Beobachtung von Kontrollschweinen. Bei bakteriologischen Untersuchungen im Flatdeckbereich der Stufe I am Ende des Versuches wurden zwar Pasteurellen, aber keine Pmt diagnostiziert. Einige Jungsauen der Stufe III zeigten bei der Schlachtung geringgradige Septumverkrümmungen. Für die PRa typische makroskopische und histologische Veränderungen der Schleimhaut ließen sich aber nicht feststellen. Die Kontrollschweine in der Stufe I prägten, teils erst in fortgeschrittenem Mastalter, die Symptome der Krankheit aus. Eine Übertragung von Pmt in die Empfängerbestände durch die verkauften Jungsauen wurde nicht nachgewiesen.

Bei einer 2-maligen Beprobung in einer Stammherde A ermittelten WALLGREN et al. (1994b) mit dem Pmt-ELISA einen Anteil an Keimträgern von 1 % der erwachsenen Zuchtschweine, die geschlachtet wurden. Der Anteil an Jungtieren, bei denen der Erreger in einem Alter von 6 - 7 Monaten nachweisbar war, betrug zu dieser Zeit 18 %. Um die Infektion jüngerer Tiere durch die älteren Gruppen zu vermeiden, wurde der Aufzuchtbereich so umgestaltet, dass eine strikt altersgetrennte Aufzucht von der Geburt bis zur Pubertät möglich wurde. Innerhalb des 4. - 7. Monats nach Beginn der regelmäßigen bakteriologischen Kontrollen hatte sich die Nachweisrate unter den Jungschweinen auf 2 % reduziert. Danach ließen sich im 7. - 12. Monat der Überwachung auch in 493 Nasentupferproben während 5 Beprobungsterminen mit dem Pmt-ELISA keine Keimträger mehr ermitteln.

In 2 weiteren Herden B und C betrug der Anteil der in 3 Beprobungen innerhalb von 3 Monaten festgestellten erwachsenen Reagenten 25 - 28 %. Tiere, für die in allen 3 Untersuchungen Pmt mit dem ELISA diagnostizierbar waren, wurden gemerzt. Die übrigen Sauen erhielten Behandlungen mit Sulfamethoxazol und Trimethoprim (Herde B) bzw. Penicillin (Herde C), bevor sie in gereinigte und desinfizierte Abferkelabteile umgesetzt wurden. Die vor den regelmäßigen Kontrollen geborenen Jungtiere wurden in ortsgetrennte Stallungen überführt. So konnten die während des Programms geborenen Schweine in unterteilte und desinfizierte Abteilungen eingestallt werden. Unter diesen Jungtieren waren im Alter von 6 Monaten (Herde B: 223 Nasentupferkontrollen aus 7 Beprobungen) bzw. 5 Monaten (Herde C: 197 Kontrollen aus 2 Beprobungen) keine Pmt mit dem ELISA mehr nachweisbar. Über den weiteren Verlauf, sowie über die Stammherden selbst liegen leider keine Informationen vor.

Bei einer angestrebten Freiheit des Bestandes kann eine negative Nachzucht ortsgetrennt aufgezogen werden, bis sie den gesamten Bestand ersetzen kann (SCHIMMEL 1992b).

Teilbestandsaustausch nach Identifizierung der Keimträger

In der jüngeren Vergangenheit fanden sich in der Literatur auch vereinzelt Berichte, nach denen es möglicherweise gelungen ist, die Pmt durch die Merzung der einzelnen Erregerträger aus den Stammherden zu eliminieren.

GOODWIN et al. (1990b) beschrieben einen Bestand von 250 Sauen ohne jeden Verdacht der PRA, in dem plötzlich die klinische Erkrankung bei mindestens 5 Absetzferkeln durch 3 Tierärzte unabhängig voneinander festgestellt wurde. Die Diagnose wurde in den beiden schwersten Fällen pathologisch-anatomisch und bakteriologisch erhärtet. Nach der Selektion der betroffenen 5 Tiere und einer Medikation des Saugferkel- und des Läuferfutters bis zur 12. Lebenswoche für 2 Monate mit Tylosinphosphat-Sulfadimidin und unter sporadischen Behandlungen mit Chlortetracyclin zur Kontrolle der Porzinen Intestinalen Adenomatose traten für 4 Jahre keine klinischen Fälle mehr ein. Bei der dann durchgeführten pathologisch-anatomischen Kontrolle und der bakteriologischen Untersuchung mit dem Maus- und dem Zellkulturtest von 221 Tieren (74 verschiedene Sauen, Saug- und Absetzferkel) in 2 Beprobungen wurden weder Symptome, noch die Erreger selbst vorgefunden.

Bei 2 Tieren einer geschlossenen, aus PRA freien Tieren aufgebauten und regelmäßig klinisch, pathologisch-anatomisch und bakteriologisch überwachten Zuchtherde wurden bei einer Routinekontrolle plötzlich Pmt diagnostiziert. Durch mehrere Laboreinrichtungen wurden die Erreger zweifelsfrei identifiziert (KAVANAGH 1994). Die betroffenen Tiere wurden selektiert. So, wie es für

das Auftreten dieser Nachweise keine epizootologische Erklärung gab, kam es im Anschluss zu keinen weiteren positiven Befunden.

In einer seit mehr als 10 Jahren routinemäßig überwachten Yorkshire-Nucleusherde mit 45 Reinzuchtsauen stellten DE JONG et al. (1994) die Infektion zunächst bei einem Jungeber, später auch für seine Boxengefährtnen fest. Als Infektionsherd vermuteten sie einen erkrankten Mastbestand in der Nähe. Vor einer Statuserhebung wurden alle Saugferkel abgesetzt und weit entfernt mit einer medikierten Diät aufgezogen. Die gesamte eigene Nachzucht wurde verkauft oder geschlachtet. Mit dem Pmt-ELISA mussten bei der Gesamtbestandsuntersuchung 4 Sauen, durch die PCR noch 4 weitere als infiziert erkannt werden. Diese Tiere wurden aus dem Bestand entfernt. Die 3 nächsten, monatlich durchgeführten und 3 weitere Gesamtbestandsuntersuchungen, dann jeweils im Quartalsabstand, erbrachten keine positiven Reaktionen mehr. Die Nachkommen der Sauen wurden mit negativem Ergebnis getestet und prägten keine klinischen Symptome der PRA aus.

ALT et al. (1996) bearbeiteten 4 Zuchtbestände nach dem folgenden Schema: 9 Monate lang untersuchten sie monatlich alle Sauen und Eber der Herden durch Nasentupferproben, die nach der aeroben Kultur im Pmt-ELISA getestet wurden, und Serumproben zum Nachweis von Pmt-Antitoxinen in embryonalen bovinen Lungenzellkulturen. Die letzte Kontrolle fand jeweils 12 Monate nach dem Untersuchungsbeginn statt. Die Aufzucht der Nachkommen erfolgte in separaten Stalleinheiten. Die Remontierung wurde für 6 Monate nach dem letzten positiven Befund ausgesetzt. Die danach eingestellten Jungsaunen und -eber zur Reproduktion unterzog man ebenfalls einer Kontrolle. Tiere mit positiven bakteriologischen und / oder serologischen Befunden wurden unverzüglich gemerzt. Die *Herde 1* mit 34 Sauen und 2 Ebern war mehrere Jahre zuvor infiziert worden. Die daraus produzierten Mastläufer zeigten schwere Symptome der PRA. In den ersten 2 Monaten der Untersuchungen wurden insgesamt 15 Reagenten aus dem Zuchtbestand entfernt. Nach 8 Monaten wurden Jungsaunen aus einer Pmt freien Herkunft eingestellt. Symptome der Erkrankung und positive Befunde traten nicht mehr auf. In der *Herde 2* aus 43 Tieren ereignete sich die Infektion 1 Jahr zuvor durch einen unkontrollierten Zukauf. Bakteriologisch positive Befunde wurden nur unter den produzierten Mastschweinen, in der Zuchtherde nur serologische Nachweise registriert. Nach der Entfernung der bakteriologischen und serologischen Reagenten gab es keine positiven Resultate im Bestand mehr, dem allerdings 10 Wochen nach dem Bearbeitungsbeginn nur noch 8 Zuchtschweine angehörten. Kurz darauf erfolgte ein Gesamtbestandsaustausch. In der *Herde 3* aus 40 Zuchttieren äußerte sich die 4 Wochen zuvor mit dem Kauf von Jungsaunen stattgefundene Einschleppung durch das Niesen der Saugferkel. Nachdem die infizierten Jung- und 4 weitere keimtragende Sauen eliminiert waren, erloschen neben der Krankheit auch die positiven Befunde. In der chronisch infizierten *Herde 4* mit 202 Sauen dauerten die Eradikationsbemühungen 7 Monate an, obwohl anfangs nur 20 % der Tiere mit einem positiven Befund den Bestand verlassen mussten. Der Sanierungsversuch konnte nicht erfolgreich zum Abschluss gebracht werden, da meist bei der nächst folgenden Untersuchung die Nachbartiere der Reagenten als infiziert erkannt werden mussten. In diesem Zeitraum hatte sich der Bestand auf 128 Tiere verringert.

Von der Eradikation der Pmt aus der NN-stressstabilen Pietrain-Herde einer staatlichen Lehr- und Versuchsanstalt in Bayern mit 67 Sauen, 13 Ebern und 413 Zuchtläufnern für die Eigenremontierung berichtete SCHNÜLL (2001). Das Gesundheitskonzept der Herde beinhaltete die Impfung der Zuchttiere und eine antiinfektive Metaphylaxe gegen die PRA. So erschien der Bestand zwar klinisch unauffällig, der bakteriologische Nachweis der Anwesenheit des Erregers aber gelang. Die Impfungen und Behandlungen wurden sofort eingestellt. In regelmäßigen Abständen wurden die Stammtiere und

die Nachzucht während der ersten 10 Monate monatlich, danach jeweils alle 2 - 4 Monate durch die bakteriologische Untersuchung von Nasentupferproben und den Test im Pmt-ELISA kontrolliert. Tiere mit positiven Ergebnissen wurden umgehend gemerzt. Im letzten Drittel des Verfahrens, ca. 9 Monate nach dem Auftreten der letzten positiven Befunde, erfolgte eine Kontrolle des verbliebenen Bestandes unter Anwendung der PCR. Hygienische und betriebsorganisatorische Maßnahmen (siehe 2.10.2) flankierten den Sanierungsversuch. Nach der Tilgung der Pmt aus der Stammsauenherde wurde aus dieser eine Erreger freie Nachzucht aufgebaut. Diese ersetzte dann nach und nach den ursprünglichen Zuchtbestand. Schlussfolgernd aus ihren Ergebnissen hielt SCHNÜLL (2001) sowohl die Sanierung einer Stammsauenherde durch die Selektion der Keimträger nach bakteriologischer Identifizierung, als auch den Aufbau einer Pmt freien Nachzucht daraus für möglich. Sie betonte aber, dass diese Ziele nur in ausgewählten Betrieben und nicht bei laufender Produktion zu realisieren sind.

DE JONG et al. (1996) untersuchten 13 niederländische, gegen die PRA geimpfte Bestände. Dabei stießen sie auch auf 6 Betriebe, in denen sie selbst aus Stichprobenumfängen von ca. 20 - 35 % der Gesamtzuchtherde mit Nasen- und Tonsillentupfern und der PCR keine Erregerträger auffinden konnten. Sie äußerten die Hoffnung, dass sich nach mehrjähriger Impfung bei ausschließlichem Tierzukauf aus Pmt freien Herkünften die Erregereradikation spontan vollziehen könnte. Nach weiteren Erfahrungen ergänzte DE JONG (2002) die dazu notwendigen Voraussetzungen wie folgt: eine mindestens 3-, durchschnittlich 5-jährige, konsequent 3-mal jährliche Impfung des Bestandes bei ausschließlichem Zukauf aus Pmt freien Herden, einer 6-wöchigen Quarantäne und in dieser eine 2-malige Grundimmunisierung der Remonten, die nochmalige Impfung der Erstlingssauen 4 Wochen vor der 1. Geburt und die Durchsetzung des Alles-rein-alles-raus-Prinzips im Abferkel- und Absetzläufbereich. Die Selektion auffindbarer Erregerträger nach der Kombination von ELISA- und PCR-Diagnostik unter Mitwirkung qualifizierter Probennehmer und Laboratorien könnte das Verfahren beschleunigen. Die Erfolgsanalyse sollte durch stichprobenweise Kontrolluntersuchungen nach dem Einstellen der Impfung erfolgen.

2.10.4 Bekämpfungsprogramme

Die nationalen und internationalen Kontroll- und Bekämpfungsprogramme sind zumeist unter Leitung zentraler oder regionaler staatlicher, genossenschaftlicher bzw. verbandseigener Einrichtungen, Zuchtverbände und -organisationen oder Erzeuger- und Vermarktungsorganisationen initiiert. Beispiele dafür sind das Flächensanierungskonzept der Schweiz (FLECHTNER 2002), das „Programm zur Überwachung und Bekämpfung der progressiven Rhinitis atrophicans bei Zuchtschweinen“ des österreichischen Tiergesundheitsdienstes (LEEB 2007), das dänische SPF-System (persönliche Mitteilung, Keld Bach, Kolding, 2004), das Veterinärkonzept der Pig improvement company (PIC) (persönliche Mitteilung, Dr. Karin Siebert, Schleswig, 2004), das Gesundheitsüberwachungskonzept des Bundeshybridzuchtprogramms (BHZP) (persönliche Mitteilung, Dr. Peter Heller, Lüneburg, 2004), die „Richtlinien für die Durchführung des freiwilligen Verfahrens zur Verhütung und Bekämpfung der Schnüffelkrankheit der Schweine (Rhinitis atrophicans, R. a.)“ der Niedersächsischen Tierseuchenkasse (persönliche Mitteilung, Dr. Hendrik Nienhoff, Hannover, 2004) oder die „Programme zur Bekämpfung der Progressiven Rhinitis atrophicans (PRA)“ der Länder Mecklenburg-Vorpommern (RATHMANN u. THOM 2002), Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen (EGER 2004). Sie verfolgen das Ziel einer regelmäßigen Kontrolle der angeschlossenen bzw. teilnehmenden Betriebe mit der Absicht einer stets aktuellen Statusübersicht. Damit soll die Ausbreitung toxinogener Stämme von *Pasteurella multocida* und damit der PRA in den Populationen verhindert werden. Außerdem sind mit ihnen Versuche einer schrittweisen

Zurückdrängung, der Vermeidung wirtschaftlicher Schäden und die Schaffung freier Bestände verbunden.

Bekämpfungsprogramme in Mecklenburg-Vorpommern von 1998 und 2001

Über Verbreitung und Auftreten der PRa bzw. über Bestandsinfektionen mit Pmt in Mecklenburg-Vorpommern lagen bis in die 2. Hälfte des vergangenen Jahrzehnts keine sicheren Erkenntnisse vor. Der 1998 wieder gegründete SGD der Tierseuchenkasse erklärte die Erhebung entsprechender Daten und die Bekämpfung der Erkrankung zu einer seiner ersten Schwerpunktaufgaben. Im Februar 1998 erarbeitete er das „Programm zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Rhinitis atrophicans, R. a.) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern“ (9.3). Dieses war an die „Satzung zur Gewährung von Beihilfen bei der Bekämpfung der Schnüffelkrankheit der Schweine (Rhinitis atrophicans - R. a.)“ vom 26. Oktober 1987 und die „Richtlinien für die Durchführung des freiwilligen Verfahrens zur Verhütung und Bekämpfung der Schnüffelkrankheit der Schweine (Rhinitis atrophicans, R. a.)“ der Niedersächsischen Tierseuchenkasse (persönliche Mitteilung, Dr. Hendrik Nienhoff, Hannover, 2004) angelehnt. Es beruhte auf dem Prinzip einer freiwilligen Teilnahme der Betriebe.

Das Ziel des Programms bestand in der Schaffung PRa unverdächtiger Zuchtbestände, in denen sich weder klinische Symptome der Krankheit, noch Pmt-Toxine mit dem ELISA oder Serum-Antitoxine nachweisen ließen. Seine Formulierungen gingen von der Möglichkeit aus, eine Sanierung unter bestimmten betrieblichen Voraussetzungen durch die Merzung der Reagenten auf der Grundlage serologischer und bakteriologischer Untersuchungen zu erreichen (ALT u. MEYER 1996).

Den diagnostischen Schwerpunkt in der ersten Fassung stellten periodische serologische Untersuchungen dar, wie sie MÜLLER et al. (1996) als geeignete Suchmethode zum Auffinden von Herdeninfektionen beurteilten. Dieses Vorgehen bot sich an, da die überwiegende Mehrheit der Zuchtbestände des Landes amtlich kontrolliert an einem anerkannten Hygieneprogramm beteiligt war und ist. Schlussfolgernd aus dem epizootischen Zug der klassischen Schweinepest von 1992 - 1998 in Mecklenburg-Vorpommern (HEYNE 1997, HEYNE u. KIUPEL 1997) und anderen Bundesländern (KADEN et al. 1994, TREU u. NIEDERS 1997), hatte das Ministerium für Landwirtschaft und Naturschutz in seiner Richtlinie „Hygieneprogramm Schwein“ die beigetretenen Betriebe zu einer vierteljährlichen, serologischen Kontrolle ihrer Herden auf Antikörper gegen das Virus der KSP verpflichtet. Die dabei anfallenden Serumproben konnten ohne weiteren personellen und finanziellen Aufwand auch für die Übersichtsuntersuchungen auf Pmt-Antitoxine genutzt werden. Der Probenumfang wurde nach einem Schlüssel entsprechend der Bestandsgröße erweitert, um die Findungsrate zu erhöhen und die Prävalenz vorhandener Pmt-Antitoxine schätzen zu können. Die Bedenken DE JONGs (1993) bezüglich einer zuverlässigen Beurteilung des Infektionsstatus der Bestände allein anhand der Serologie wurden berücksichtigt: Die Diagnostik wurde durch regelmäßige klinische Kontrollen und stichprobenweise Entnahme von Nasentupferproben ergänzt.

Die labordiagnostischen Analysen, Pmt-Antitoxin-ELISA und bakteriologische Untersuchungen der Nasentupfer, erfolgten im staatlichen Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommerns (LVL M-V), einem akkreditierten Labor. Für die klinische Bestandsbeurteilung waren allein die Untersuchungsergebnisse des SGD maßgebend. Die Blutproben wurden durch die Betreuungstierärzte der Betriebe entnommen, die in Ausnahmefällen nach Einweisungen durch den SGD auch zu Nasentupferprobenentnahmen herangezogen wurden.

Die Kosten der Probenentnahmen und die Untersuchungsgebühren wurden vom SGD direkt getragen bzw. erstattet.

Die Bewertung und Beurteilung der Befunde nahm der SGD vor. Die Einstufung in eine der im Programm genannten Kategorien hatte eine Gültigkeit von 8 Monaten. Nach jeder Bestandsuntersuchung erhielten die Betriebe eine aktualisierte Zusammenstellung der Ergebnisse aller durchgeführten Untersuchungen (9.5). Für Bestände, in denen über ein Jahr keine der Untersuchungen einen Hinweis auf die Anwesenheit der Erreger erbrachte, war die Bestätigung der „R. a.-Unverdächtigkeit“ vorgesehen (9.8). Diese Bestätigung war darüber hinaus an weitere Bedingungen geknüpft:

1. Es durften keine Impfungen gegen Pmt und keine routinemäßigen antibiotischen Behandlungen gegen Atemwegsinfektionen im Bestand erfolgen.
2. Beim Auftreten verdächtiger klinischer Symptome oder diagnostischen Hinweisen aus nicht im Rahmen des Programms erhobenen Befunden war eine umgehende Information des SGD vorgeschrieben.
3. Die Gefahr der (Re-)Infektion der Herden sollte durch eine gezielte Kontrolle des Tierverkehrs (Reproduktion ausschließlich aus nach diesem oder gleichwertigen Programmen kontrollierten Beständen, Transport nur in sicher und ordnungsgemäß gereinigten und desinfizierten Fahrzeugen, Unterbindung jeden Kontaktes zu Schweinen anderer Herden, Verbot der Wiedereinstellung von einmal aus dem Bestand verbrachten Tieren) begrenzt werden (9.4).

Bei einer nachgewiesenen Anwesenheit des Erregers im Bestand und einer Seroprävalenz der Pmt-Antitoxine unter 20 % der untersuchten Stichproben wurde Betrieben, die entsprechende materielle und betriebsorganisatorische Voraussetzungen erfüllen konnten (3.1.1), die Möglichkeit angeboten, mit fachlicher und finanzieller Unterstützung des SGD den Versuch einer Sanierung durch die Merzung der Reagenten in Angriff zu nehmen. Wenn Pmt-Antitoxine in mehr als 20 % der untersuchten Seren einer Herde auftraten und so einen hohen Durchseuchungsgrad erwarten ließen, wurden bestandsspezifische Bekämpfungsprogramme erarbeitet. Diese beinhalteten betriebsorganisatorische, immunprophylaktische und antiinfektive Maßnahmen.

Nach den hier beschriebenen Prinzipien war die durch den SGD fachlich und finanziell unterstützte Bekämpfung der PRA in Mecklenburg-Vorpommern bis zum Ende des Jahres 2000 organisiert. Damals beteiligten sich 18 Betriebe mit einem gesamten Sauendurchschnittsbestand von ca. 15 150 Tieren, damit mehr als 20 % des Sauenbestandes des Landes, am Programm.

Im Januar 2001 erfolgte eine Überarbeitung des Programms (9.6). Schon im Titel der neuen Fassung wird zwischen der progressiven, durch Pmt verursachten Form der Ra und nichtprogressiven Formen differenziert. Wenn auch der Text erneut die Schaffung PRA unverdächtiger Bestände und die PRA-Tilgung als Zielstellungen formuliert, sind Wesen und Inhalt des neuen Programms doch in erster Linie auf eine intensive, an internationalen Maßstäben orientierte Diagnostik ausgerichtet. Diese soll eine klare Definition der Bestände als Basis bestandsspezifischer Kontroll- und Bekämpfungskonzepte ermöglichen. In Kenntnis des entscheidenden Kriteriums, der Anwesenheit und Nachweisbarkeit der Pmt, auch ohne Auftreten aktueller klinischer Symptome (BOLLWAHN 1988, DE JONG u. NIELSEN 1990), wurde die bakteriologische Diagnostik, flankiert durch periodische klinische Untersuchungen (PEDERSEN et al. 1988), zum zentralen Kernstück des neuen Programms. Die Serologie ergänzt das diagnostische System auch weiterhin, weil die zu gewinnenden Blutproben keinen zusätzlichen Aufwand erfordern. Unter Umständen können sie aber Hinweise auf stattgehabte

Infektionen liefern, wenn Erregerpersistenz und -vermehrung, damit die bakteriologische Nachweisbarkeit durch die körpereigene Abwehr oder antiinfektive Behandlungen schon deutlich eingeschränkt sind. Außerdem bieten sie die Möglichkeit, das Verbot von Impfmaßnahmen gegen Pmt in als PRA unverdächtig anerkannten Betrieben zu kontrollieren (PEDERSEN et al. 1988, SCHNÜLL 2001).

Wie die Zeitintervalle der Probenentnahmen und klinischen Kontrollen, sind die Stichprobenumfänge der bakteriologischen Untersuchungen den Bestandsgrößen und potenziellen Übertragungs- und Ausbreitungstendenzen besser angepasst. Dabei sind sie weiterhin ein ökonomisch determinierter Kompromiss zwischen praktikablem (und finanzierbarem) Aufwand und diagnostischer Aussagesicherheit (DE JONG 1993). Mindestens 1-mal jährlich kommt die PCR nach einer kombinierten Nasen- und Rachentupferprobenentnahme zum Einsatz. Die Konzentration auf prädisponierte Tier- und Altersgruppen wie (pubertierende) Jungsauen, ältere Aufzuchtläufer, an Atemwegssymptomen erkrankte Tiergruppen und Bestandseber (wegen ihrer häufig wechselnden Tierkontakte) soll einer höheren Findungsrate entgegenkommen. Außerdem sind jetzt die Möglichkeiten klinischer Untersuchungen und Probennahmen aus eingesetzten Futtermittelpartien (zur Kontrolle widerrechtlicher, weil nicht mit dem SGD abgestimmter Medizinierungen) auch ohne Ankündigung ausdrücklich eingeräumt. Zur Abklärung von Verdachtsmomenten werden individuelle Lösungen erarbeitet.

Die Bestätigung der PRA-Unverdächtigkeit kann erst nach einem Zeitraum von 2 Jahren lückenloser Kontrollen erfolgen und ist auf eine Dauer von 12 Monaten begrenzt. Wie in der ursprünglichen Fassung sind die Teilnahme und letztlich die Bestätigung des Unverdächtigkeitsstatus an die Erfüllung definierter Bedingungen geknüpft, die mit der Unterzeichnung der Verpflichtungserklärung (9.7) zu akzeptieren sind.

In der aktivsten Periode der Programmdurchführung, im Frühjahr 2002, konnte die PRA-Unverdächtigkeit durch den SGD nach seinen Maßgaben für 8 Zuchtbestände des Landes mit insgesamt fast 5000 Sauen bestätigt werden. Zwei Betriebe bekämpften die Krankheit in ihren Herden, diagnostisch begleitet, mit kontrollierten Impf-, 2 mit individuellen Konzepten zur Erregerreduzierung. Derzeit nehmen die Anzahlen der am freiwilligen PRA-Programm beteiligten Betriebe und Schweinebestände kontinuierlich ab. Nur in Einzelfällen war die hohe ermittelte Erregerprävalenz der Grund, von einer weiteren Bearbeitung mit hoher wirtschaftlicher Belastung Abstand zu nehmen. Dagegen scheuen nicht wenige Betriebe mit eigener Reproduktion und ausschließlicher künstlicher Besamung (geschlossenen Beständen) den organisatorischen Aufwand, den einmal bestätigten Status regelmäßig kontrollieren zu lassen. Nachgeordnete Handelspartner erwarten die Freiheit von Pmt zwar ganz allgemein und setzen sie voraus, sind aber nicht bereit, das Qualitätskriterium preislich zu honorieren.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Kriterien zur Auswahl eines Bestandes für die Sanierung durch Reagentenselektion

Wegen der hohen wirtschaftlichen Risiken eines aufwendigen Sanierungsverfahrens wurden der bestandsspezifischen Entscheidung für eine Eradikation durch die Selektion der Reagenten die folgenden betriebsorganisatorischen und hygienischen Voraussetzungen als Auswahlkriterien zugrunde gelegt:

1. eine überschaubare Bestandsgröße zwischen 100 und 1000 Zuchttieren (Sauen, Jungsauen und Eber)
2. klar gegliederte Produktionsstrukturen
3. eine möglichst geringe Zustallung von Tieren (wenn diese unumgänglich, ausschließlich aus kontrolliert von Pmt freien Herkünften)
4. ein hohes Niveau der tierischen biologischen Leistungen
5. ein hoher Standard der Tierhygiene und des Seuchen- und Infektionsschutzes
6. eine konstante, vertraglich vereinbarte tiermedizinische Betreuung
7. eine hohe Motivation der Betriebsleitung und des Betreuungspersonals
8. eine wirtschaftliche Stabilität des Betriebes
9. eine ökonomisch relevante Bedeutung des angestrebten Sanierungsergebnisses
10. ein aus dem Eingangsscreening geschätzter Anteil an Erreger- und Antitoxinträgern (in der Summe) von unter 20 % des Zuchtschweinebestandes

Die Festlegung dieser Kriterien resultierte aus objektiven biologischen, tiermedizinischen und ökonomischen Zusammenhängen:

- zu 1.) Mit der festgelegten Bestandsgröße wird eine Tierpopulation von weiter nutzbarer Individuenanzahl mit angestrebter Pmt-Freiheit geschaffen und zugleich das wirtschaftliche Risiko im Falle des Misslingens des Versuches begrenzt.
- zu 2.) Die Unterbringung der Tiere (z. B. in mehreren, voneinander getrennten Stalleinheiten), die Gestaltung ihrer Umwelt (STEINMETZ et al. 1991, HEER et al. 1995) und Qualität der Betreuung (nach verbindlichen Arbeitsplänen, mit konsequenter Durchsetzung des Alles-rein-alles-raus-Prinzips in bestimmten Bereichen), einschließlich der Berücksichtigung System bedingter Altersunterschiede (differenzierte gesundheitliche Stabilität) (WALLGREN et al. 1994a), sind direkte Einflussgrößen auf die Abwehrlage und das Infektionsrisiko (auch natürliche Übertragungsbarrieren) von Einzeltieren und der Herde.
- zu 3.) Die Beschränkung des Tierzuflusses (aus Pmt-freien Herkünften, nur nach überwachter Quarantäne) reduziert das potenzielle Risiko von Reinfektionen.
- zu 4.) Gute biologische Leistungen belegen die Qualität materieller und personeller Voraussetzungen und erhöhen die Wahrscheinlichkeit eines anhaltenden Interesses an einem, eventuell auch langwierigen, Versuch.

- zu 5.) Die angewandte Tierhygiene und der Seuchen- und Infektionsschutz umfassen alle Maßnahmen zur Schaffung optimaler Lebensbedingungen für Zucht- und Nutztiere mit dem Ziel, die Tiergesundheit zu sichern und das genetische Leistungspotenzial der Tiere auszuschöpfen (MEHLHORN 1979, WIESNER u. RIBBECK 1983). Dazu gehören die Standortwahl, einschließlich der Bestandsabschirmung, die Bauhygiene, die Organisation des Tierflusses und die Verfahrenshygiene (wie Stallluft-, Futter-, Fütterungs-, Wasser-, Abwasser-, Abfall- und Fäkalhygiene) ebenso, wie die allgemeine und spezielle Seuchenprophylaxe, und der Infektionsschutz einschließlich Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen. Ein funktionierendes System der Tierhygiene schränkt die Erregerübertragung und -ausbreitung, sowohl zwischen den Beständen, als auch zwischen Tiergruppen und Einzeltieren, ein.
- zu 6.) Stabile, personell gebundene Vertragsbeziehungen mit Übereinstimmung wirtschaftlicher Interessen in der tierärztlichen Versorgung fördern Qualität und Standardisierung bei der Durchführung der diagnostischen Maßnahmen.
- zu 7.) Der Erfolg hängt zu weiten Teilen von der konsequenten, täglichen Umsetzung erarbeiteter Konzeptionen ab.
- zu 8.) Die zunächst hohen wirtschaftlichen Belastungen des Verfahrens sind nur ökonomisch stabilen Betrieben zuzumuten.
- zu 9.) Das angestrebte Ergebnis sollte den Wert des zu vermarktenden Tiermaterials durch die zugesicherte Qualität erhöhen und sich so in der wirtschaftlichen Bilanz des Erzeugers niederschlagen. Aufbau und Konzeption nachgeordneter Produktionsstrukturen müssen die Verwertung des erzielten tiergesundheitslichen Vorteils ermöglichen.
- zu 10.) Die Begrenzung auf einen geschätzten Erwartungswert an Merkmalen (= Erreger- und Antitoxin-)trägern verringert die ökonomischen Belastungen und schränkt das Risiko eines biologischen und wirtschaftlichen Misserfolges ein.

3.1.2 Beschreibung des Versuchsbestandes

Produktionszweige und -einheiten des Betriebes

Der nach den voran genannten Kriterien als Versuchsprojekt ausgewählte Zuchtschweinebestand stellt einen von 5 Betriebszweigen (neben Feldbau und Futterwirtschaft, Milch- und Rindfleischproduktion, Schweinemast und Biogasproduktion) einer landwirtschaftlichen Erzeugergesellschaft (GmbH) in Mecklenburg-Vorpommern dar.

Auf einer landwirtschaftlichen Nutzfläche von 1440 Hektar (davon 1155 ha Ackerfläche, 258 ha Grünland und 39 ha Stilllegungsflächen - Stand per 13. Juni 2003) werden auf lehmigem Sand bis sandigem Lehm mit durchschnittlich 38 Bodenpunkten und bei Jahresniederschlagsmengen von ca. 630 mm / m² Getreide, Ölsaaten, Mais, Feldfutter, Erbsen und Zuckerrüben angebaut.

Ein Gesamtbestand von ca. 920 Rindern (davon 400 Milchkühe, übrige Tiere eigene Nachzucht) erzeugt bei einer Quote von 2 961 100 kg durchschnittlich 9305 kg Milch mit 4,65 % Fett pro Kuh und Jahr.

Im Juni 2003 wurde ein neuer moderner Schweinemaststall (Flüssigsensorfütterung mit je einer unabhängigen Stichleitung pro Abteil bei Einsatz wirtschaftseigenen Getreides, Vollspaltenböden mit reduzierten Spaltflächenanteilen, die aktuellen Tierschutzanforderungen entsprechen, Zentralkanal-Unterdruckentlüftung mit Porendecken-Zuluftkanälen, Deltarohr-Warmwasserheizungen mit Abwärmenutzung aus der benachbarten Biogasanlage, ergänzt durch Heizkonvektoren, Güllerohrentmischung mit 2 Endlagern für je 2800 m³) mit 3000 Mastplätzen (18 Abteile mit jeweils 8 Buchten für je 21 Tiere und 1 Selektionsabteil für 36 Tiere) seiner Nutzung übergeben.

Zeitgleich nahm die Biogasanlage (150 m³ Vorgrube, 1200 m³ Fermenter) zur Verwertung der Rinder- und Schweinegülle mit 2 Blockheizkraftwerken zu je 65 kWh elektrischer Leistung und einer geplanten jährlichen Energieeinspeisung von ca. 850 000 kWh ihre Produktion auf.

Der jährliche Zuchtschweinedurchschnittsbestand (Sauen ab erster Belegung und 3 Eber) des Betriebes umfasst 495 Tiere an einem Standort, die in durchschnittlich 2,35 Würfen pro Sau und Jahr derzeit 21,78 abgesetzte Ferkel (bei 12,39 % Saugferkelverlusten, Durchschnittsbestand in der Anlage ca. 2000 Ferkel und Läufer) produzieren. Die erzeugten Mastläufer mit einer Aufzuchtendmasse von ca. 25 - 32 kg wurden bis zum Frühsommer 2003 an eine Viehhandelsorganisation veräußert. Seit der Fertigstellung der betriebseigenen Mastanlage in etwa 4 km Entfernung erfolgt jetzt deren Beschickung ausschließlich mit diesen Tieren.

Produkte und genetisches Material des Bestandes

Die Zuchtschweineherde reproduziert sich schon seit den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts durch die Eigenremontierung der Sauen und benötigten Bestandseber selbst. Der Zuchtfortschritt wird allein über die Leistungsselektion und den Einsatz geeigneter Vaterlinien in der künstlichen Besamung realisiert. Der Bezug des erforderlichen Spermas erfolgt aus der Besamungseberstation der NOS Schweinebesamung GmbH in Malchin. Schon seit Jahren wurden keine Schweine mehr in die Herde zugestellt. Dies ist auch weiterhin nicht vorgesehen. Der Bestand aus Reinzuchttieren der Rasse LeiCoMa und F₁-Hybriden aus den Rassen LeiCoMa x Deutsche Landrasse (DL) erzeugt durch die Anpaarung von Pietrain-, Hampshire- und Duroc-Ebern in erster Linie Endstufen-Mastläufer. Als Mitglied des regionalen Hybridschweinezuchtverbandes (HSZV) Nord-Ost e. V. werden aber neben der eigenen Bestandsremonte (LeiCoMa-Nucleus, F₁-Hybriden mit DL) auch Mutterrasseeber-Ferkel (LeiCoMa) zur Leistungsprüfung für die Besamungseberstation Malchin zur Verfügung gestellt.

Die Rasse LeiCoMa wurde in der landwirtschaftlichen Produktion der Deutschen Demokratischen Republik (1949 - 1989) als Schweinenutzrasse gezüchtet und verkörperte das damalige Zuchtziel. Sie zeichnete sich neben guten Fruchtbarkeitsparametern durch eine überdurchschnittliche Robustheit in allen physiologischen Merkmalen, vor allem in Bezug auf die Stabilität des Bewegungsapparates, aus. Mit der Anpassung an neue Marktanforderungen wurde die Rasse in den letzten 15 Jahren zunehmend aus der Population verdrängt. Einige ihrer Eigenschaften aber können auch noch heute die Schweinezüchtung bereichern. Daraus ergibt sich die aktuelle Daseinsberechtigung der Rasse. Sie wird augenblicklich nur noch in 7 Herden mit einer Gesamtpopulation von 814 Zuchtsauen und 15 Ebern in den Bundesländern Brandenburg, Sachsen-Anhalt und Thüringen (TISCHER u. WEISSENBORN 2004) als Genreserve, wie im vorgestellten Betrieb, erhalten. Im Falle eines notwendigen Gesamtaustausches des Bestandes wären genetisches Potenzial und Ergebnisse jahrzehntelanger Zuchtarbeit unwiederbringlich verloren gewesen.

Produktionsbedingungen und -abläufe

Der Anlagenkomplex aus 4 genutzten, separaten Stalleinheiten in Pavillonanordnung und einem Sozialgebäude (Abb. 1) befindet sich in einer isolierten Lage. Die Bewirtschaftung erfolgt strikt nach dem Schwarz-Weiß-Prinzip. Anlage und Schweinebestand werden regelmäßig durch die Veterinärbehörden des Landkreises entsprechend der Richtlinie Hygieneprogramm Schwein des Ministeriums für Ernährung, Landwirtschaft, Forsten und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern (MELFF M-V) vom 25. Juni 2003 (AmtsBl. M-V Nr. 32, S. 806 - vorher Richtlinie des Ministeriums für Landwirtschaft und Naturschutz Mecklenburg-Vorpommern vom 17. März 1998, AmtsBl. M-V Nr. 16, S. 406) kontrolliert.

Die Nutzung der 4 Stallheiten, ihre räumliche Aufteilung und eine Übersicht der wichtigsten Elemente ihrer Ausrüstungen sind der Tabelle 2 zu entnehmen.

Im 7-Tage-Rhythmus werden die Wochengruppen von durchschnittlich 24 Sauen nach einer 3-wöchigen Sägezeit und dem Absetzen der Ferkel, jeweils am Donnerstagmorgen, in den Belegstall eingestellt (9.9, Abb. 15). 24 Stunden später erfolgt ihre Behandlung mit einem PMSG-Präparat zur Rauschestimulierung. Eine sehr hohe jährliche Remontierungsrate von bis zu 67 % in den Jahren 1999 bis 2002 resultierte sowohl aus den Zuchtaufgaben des Bestandes, wie auch aus der hohen, nicht leistungsbezogenen Selektion während des Sanierungsversuchs. In diesem Stall erfolgt die Belegung der Sauen zu 98 % durch die künstliche Besamung. Nach der Bestätigung der Trächtigkeit durch eine 2-malige sonografische Untersuchung werden die Tiere etwa am 45. Trächtigkeitstag in den Wartestall umgetrieben (9.9, Abb. 16).

Hier verbleiben die Sauen bis etwa zum 108. Trächtigkeitstag. Die 24 separaten, an der Stirnseite des Stalles gelegenen Einzeltierkastenstände (9.9, Abb. 16; Tab. 2) waren im Verlauf des Sanierungsversuchs von besonderer Bedeutung.

Etwa 1 Woche vor dem erwarteten Geburtstermin werden die Sauen in den kombinierten Abferkel- und Läuferaufzuchtstall umgestellt und hier auf die Geburt vorbereitet (9.9, Abb. 17). Nach dieser ziehen sie die Saugferkel in der durchschnittlich 21-tägigen Laktationsphase auf. Damit schließt sich der planmäßige Arbeitszyklus der produktiven Sauengruppen.

In unmittelbarer räumlicher Nachbarschaft zu den Abferkelabteilen und, auf einer Seite des Zentralganges, von diesen nur durch einfache Türen getrennt, sind die Flatdeck- Läuferaufzuchtteile angeordnet. Diese nehmen die Ferkel - mit Ausnahme der verkauften Zuchteberferkel - nach dem Absetzen auf. Der beim Öffnen der Türen immer wieder erfolgende Raumluft- und damit auch Keimaustausch zwischen den ferkelführenden Sauen und den Absetzläufers stellt ein potenzielles Risiko für die Unterbrechung von Infektketten dar. An der Stirnseite einiger Flatdeckabteile ist in einer 2. Etage jeweils eine kleinere Box installiert. Diese erhöhten Boxen mit einem wärmeren Mikroklima bieten die Möglichkeit einer gesonderten Fürsorge für gesunde, aber kleinere, leichtere Ferkel.

3 Eigene Untersuchungen

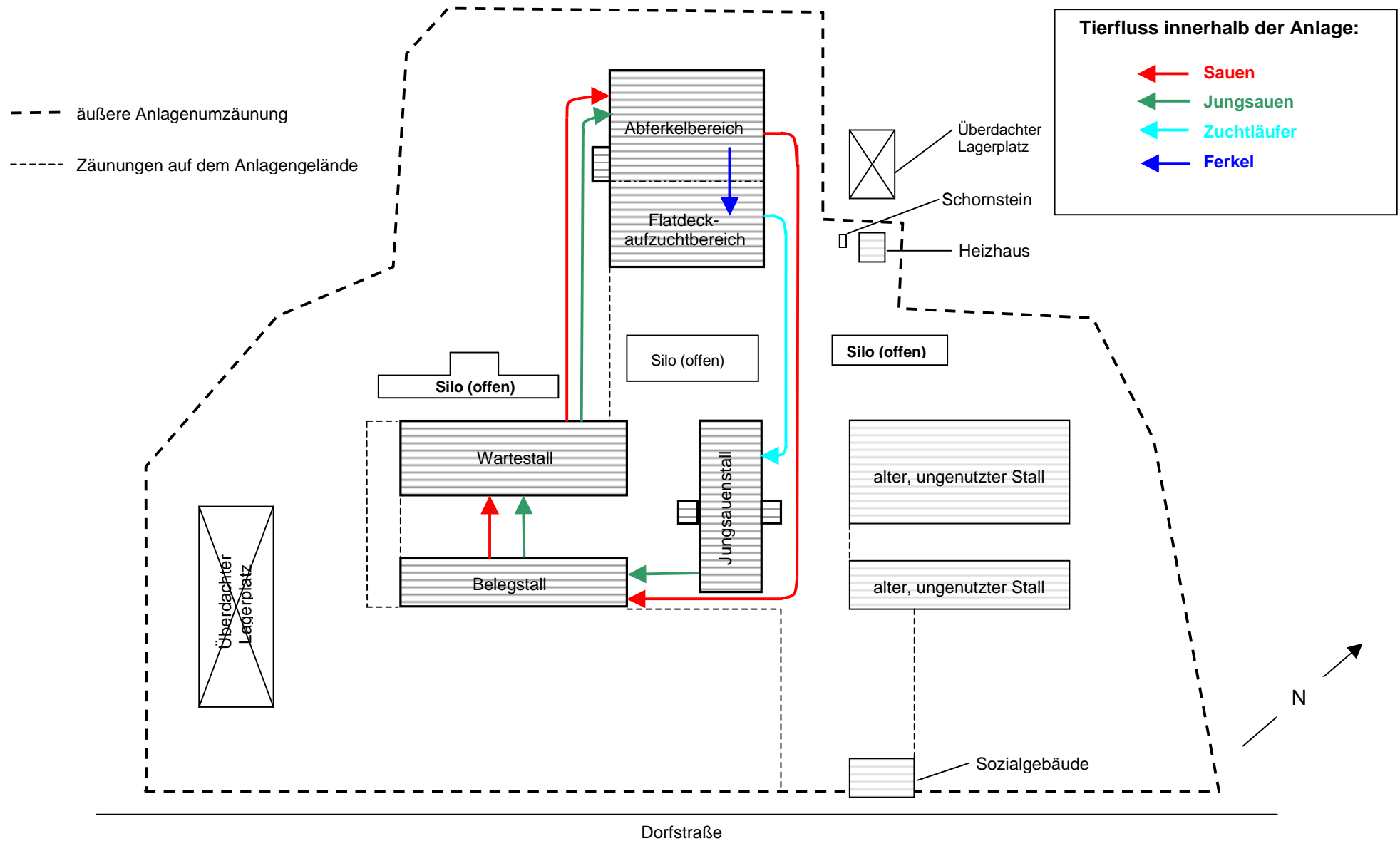


Abb. 1: Lageplan der Schweinezuchtanlage des Betriebes (Skizze im Maßstab ca. 1 : 1200)

3 Eigene Untersuchungen

Tab. 2: Stallbauten der Anlage, ihre Raumaufteilungen und Ausrüstungen

Ausrüstungsparameter	Belegstall	Wartestall	Abferkel(a.)- und Läuferaufzucht(b.)- (= Flatdeck-)stall	Zuchtläuferaufzucht-, Jungsauen- und Selektionsstall
Stallabteile / Zahl der Tierplätze ges.	1 / ca. 210	2 / ca. 290	a. 5 / 120	2 / ca. 300
			b. 7 / ca. 1400	
Anzahl der Boxen / Tiere je Box	185 Einzelkastenstände 4 Gruppenboxen / 8 - 10 6 Eberboxen / 1	33 mit je 1 Einzelkasten- stand / 8 24 Einzelkastenstände / 1	a. 24 je Abteil / 1	12 je Abteil / ca. 10 - 15 (je nach Alter)
			b. 8 je Abteil / 25	
Boxenbegrenzungen	Stahlrahmenkonstruktion (Einzelstände + Eber) bzw. Wände wie Wartestall	1 m hohe, unperforierte Kunststoffwände, ca. 15 cm darüber Längsstahlrohre	a. Kunststoffwä., 55 cm hoch	80 cm hohe Kunststoffwä., darüber 2 Längsstahlrohre im Abstand von je 15 cm
			b. Kunststoffwä., 80 cm hoch	
Bodengestaltung	Beton-Teilspaltenboden mit Liegefläche bzw. in Gruppen Vollspaltenboden	Beton-Vollspaltenboden	a. Kunstst.-Teilspaltenboden mit 50 cm Betonliegefläche	Beton-Vollspaltenboden
			b. Kunstst.-Vollspaltenboden	
Entsorgungssystem	Güllekanäle	Güllekanäle	a. Güllewannen	Güllekanäle
			b. Güllewannen	
Lüftungssystem	Unterdrucklüftung, Rieseldecken-Zuluft	Unterdrucklüftung, Rieseldecken-Zuluft	a. wie Beleg- und Wartestall	Unterdrucklüftung, Porendeckenkanal-Zuluft
			b. 2x Türganglüftung	
Fütterungstechnik	Einzelplatz-Trockenfutter- Volumendosierautomaten	Drippel-Rohrfütterung	a. Einzelplatz-Trockenfutter- Volumendosierautomaten	Rohr-Breifutter- automaten
			b. Trockenfutterautomaten	
Tränkesystem	Trogtränke, Nippeltränken für Eber und Gruppen	8 Nippeltränken über Trog, 1 an Boxentrennwand	a. Nippel für Sauen u. Ferkel	Nippeltränken
			b. Nippeltränken	

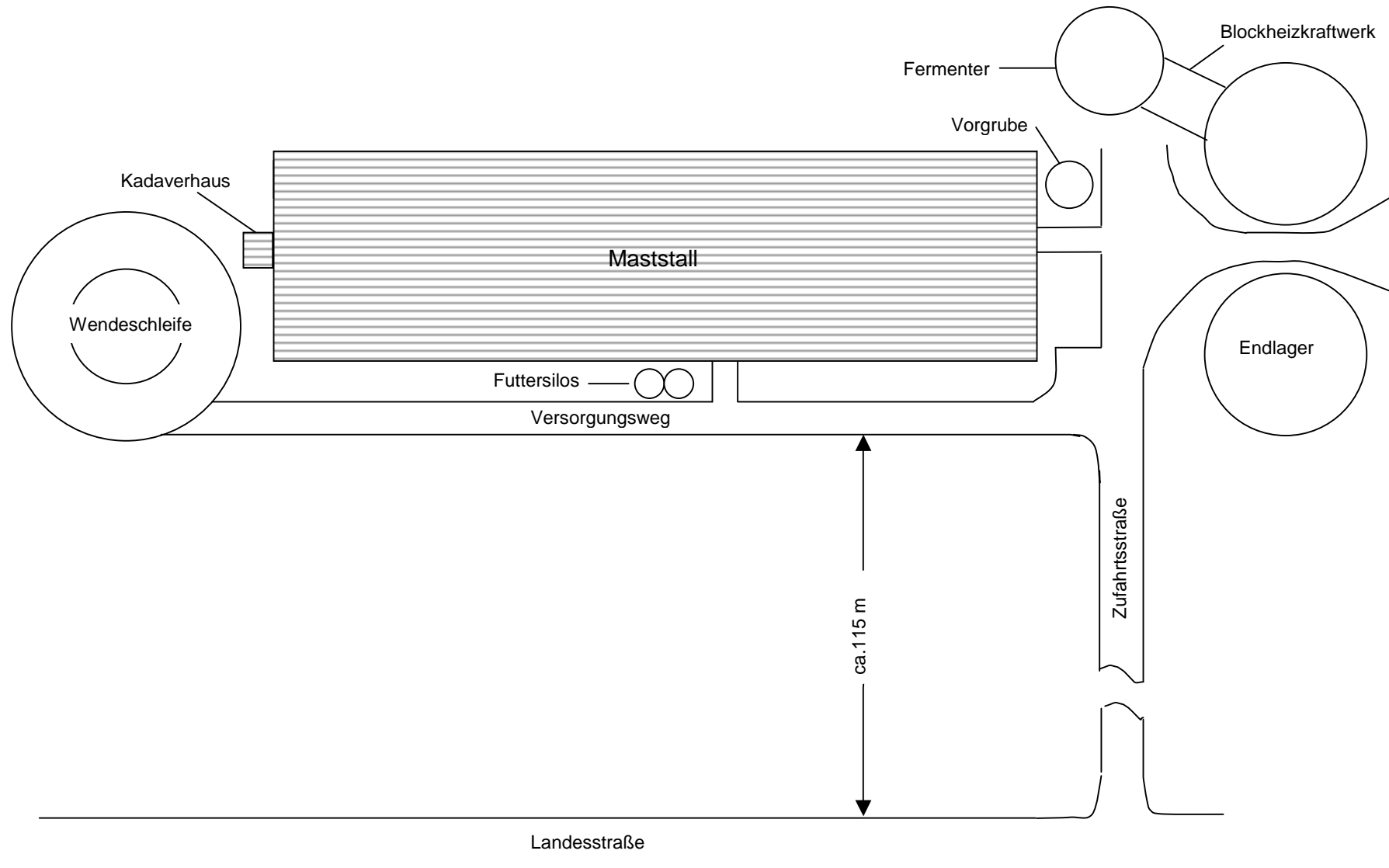


Abb. 2: Lageplan für die Mastanlage des Betriebes (Skizze im Maßstab ca. 1 : 880)

In den Flatdeck-Abteilen wachsen die Läufer bis zu ihrem Transport in den nahen Mastbestand (Abb. 2 und 9.9, Abb. 19) mit einem Alter von ca. 8 - 10 Lebenswochen auf (früher bis zum Verkauf). Während die Mastläufer danach den Bestand verlassen, erreichen die weiblichen Zuchtläufer den Zuchtläuferaufzucht-, Jungsauen- und Selektionsstall (9.9, Abb. 18). Dieser löste im Frühsommer 1999 eine alte Tiefstreuhaltung ab. Bis zum Jahr 2003 wurde eines seiner Abteile zur selektiven Weiterhaltung unverkäuflicher Mastläufer, das benachbarte für die Unterbringung der Zuchtläufer genutzt. Diese Situation, in der Vergangenheit ein unbefriedigender Kompromiss, konnte durch den neuen Maststall (9.9, Abb. 19) und sein Krankenabteil gelöst werden. Das Betreuungspersonal der Herde aus 2 Tierwirten mit staatlichem Berufsabschluss, einem auszubildendem Tierwirt und 1 Mitarbeiter für Technik und sonstige Aufgaben wird fachlich und disziplinarisch von einem Diplom-Agraringenieur angeleitet, dem auch die Mastanlage untersteht.

Futter- und Wasserversorgung

Alle Schweine werden mit pelletierten, industriell hergestellten Fertigalleinfuttermitteln versorgt. Dabei kommen für die Sauen und Eber 2 verschiedene Rationen, die für tragende und die für säugende Sauen, zum Einsatz. Sie tragen den unterschiedlichen Bedarfswerten der Tiere in den beiden Produktionsphasen Rechnung und unterscheiden sich in ihren Nähr-, Mineral- und Wirkstoffgehalten. Für die Ferkel und Läufer sieht die praktizierte Fütterungskonzeption 3 Phasen vor: ein Prästarterfutter zur Beifütterung im Saugferkelbereich, ein Absetz- oder Starter- (Ferkelfutter I: bis ca. 10 - 12 kg Lebendmasse) und ein Läuferaufzuchtfutter (Ferkelfutter II: bis zum Verkauf bzw. Umsetzen in Mast oder Jungsauenaufzucht mit 25 - 32 kg). An dieses schließt sich zeitlich das Jungsauenaufzuchtfutter für die weiblichen Jungschweine und einzelne nachgezogene Eberläufer an. Die Tränkwasserversorgung des Bestandes wird durch eine betriebseigene Brunnenanlage gewährleistet.

Gesundheitsstatus und -management

Wie in anderen, ähnlich strukturierten Läuferproduktionsanlagen, können nur der Abferkel- und Läuferaufzuchtbereich im abteilweisen Alles-rein-alles-raus-Verfahren mit intensiven Serviceperioden bewirtschaftet werden. Die ökonomische Notwendigkeit einer maximalen Auslastung der Stallplatzkapazitäten erfordert in den übrigen Stalleinheiten eine infektionshygienisch riskante, kontinuierliche Belegung. Eine besondere Bedeutung gewinnt dieser Umstand im Falle des Zuchtläuferaufzucht-, Jungsauen- und Selektionsstalles, wo immer wieder verschiedene Altersgruppen mit unterschiedlicher Abwehrlage aufeinander treffen. Vorhandene pathogene Erreger nutzen die Möglichkeit zur Vermehrung in ungeschützten Teilpopulationen und können so Infektketten aufrechterhalten. Während des gesamten Versuchszeitraumes wurde die Herde kontinuierlich von einem promovierten und habilitierten Tierarzt betreut. Das System immunprophylaktischer Maßnahmen ist in Tabelle 3 zusammengestellt.

Nach einer Infektion des vorher negativen Bestandes mit dem Virus des Porzinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndroms im Frühjahr 2000 (erstmalig Antikörper- und Genomnachweise am 16. bzw. 28. März 2000) erfolgte im Juni / Juli 2001 ein Sanierungsversuch von diesem Erreger. Dazu wurden die Zuchtläufer, Eber, Jung- und Stammsauen der Herde zusätzlich 2-mal bestandsweise mit einem attenuierten (US-amerikanischen) Lebendvirusstamm geimpft. Zeitgleich erfolgte auch die Vakzinierung von insgesamt 5 Wochengruppen neugeborener Ferkel jeweils in der 2. Lebenswoche mit dem gleichen Impfstoff. Seit Ende Juli 2001 wurde dann wieder auf jede Impfung gegen PRRS-Viren verzichtet. Anfänglich waren keine Antikörper und Infektketten mehr nachweisbar.

3 Eigene Untersuchungen

Tab. 3: Immunprophylaxe im Versuchsbestand

Erreger	Art des Impfstoffs	Tiergruppen	Impfregime
Porzine Parvoviren / Erysipelothrix rhusiopathiae	kommerzielle Adsorbatvakzine	Jungsauen / -eber	2-malige Grundimmunisierung im Abstand von 3 Wochen zwischen dem 180. Lebenstag und 14 Tagen vor der 1. Belegung
		Stammsauen	gruppenweise Wiederholungsimpfungen jeweils 10 – 14 Tage post partum (ca. 3 Wochen vor nächster Trächtigkeit)
		Eber	Wiederholungsimpfungen im Abstand von jeweils 4 Monaten
Pathogene Stämme von Escherichia coli / Clostridium perfringens Typ C	kommerzielle Adsorbatvakzine	Jung- und Stammsauen	passiver Schutz der Saugferkel über maternale, laktogene Antikörper nach Muttertier-Immunsierung 5 und 2 Wochen ante partum
Mycoplasma hyopneumoniae	kommerzielle „one-shot“- Adsorbatvakzine	Saugferkel	1-malige aktive Immunisierung mit dem Absetzen, bis Sommer 2002: 2-malige Impfung mit „two-shot“-Vakzine (in der ersten Lebenswoche und beim Absetzen)
Haemophilus parasuis	bestandsspezifische Adsorbatvakzine	Absatzferkel / -läufer	2-malige aktive Immunisierung mit dem Absetzen und 3 Wochen später

Spätere Untersuchungsergebnisse belegten das Scheitern dieses Sanierungsversuchs: Der Bestand war nach wie vor mit PRRS-Viren infiziert. Die klinischen Auswirkungen auf die Abwehrlage der Herde, die Tiergesundheit und die biologischen Leistungen wurden durch die Impfungen stark vermindert. Die tiergesundheitsliche Gesamtsituation konnte als stabil beurteilt werden. In regelmäßigen Zeitabständen (4-mal jährlich) ermittelte PRRS-Antikörpertiter zeigten lange ein niedriges Niveau. Vor einigen Jahren wandelte sich die Situation wieder fließend und annähernd unbemerkt: Heute sind weder PRRS-Viren noch -Antikörper in der Herde nachweisbar. Inzwischen ist eine spontane Sanierung nicht mehr auszuschließen.

Zweimal jährlich werden alle Zuchttiere (Zuchtläufer, Eber, Jung- und Stammsauen) mit einem Avermectin-Präparat parenteral gegen Endo- und Ektoparasiten behandelt. Eine jeweils ca. 10 – 14-tägige orale Gruppenbehandlung nach dem Absetzen mit Amoxicillintrihydrat gegen Infektionen mit Streptokokken und *Haemophilus parasuis* und einem Kombinationspräparat aus Zinkoxid und Colistinsulfat gegen Durchfallerkrankungen soll die Startphase der Ferkel mit einer allgemeinen Verdünnung pathogener Bakterien erleichtern.

3.1.3 Phasen des Sanierungsversuchs

Für die systematische, retrospektive Auswertung war es sinnvoll, den Sanierungsversuch in 4 zeitliche Phasen zu untergliedern. Diese unterschieden sich in ihren Zielen und Inhalten, wie auch in den angewandten Verfahren und diagnostischen Methoden. Schlussfolgernd aus den gewonnenen Befunden und Informationen musste das weitere Vorgehen jeweils an die entstandenen Situationen angepasst werden.

Statuserhebung (Phase I)

Der Anlass des Versuches war das Auftreten klinischer Symptome (Nasenaufreibungen, Deformationen von Rüsseln und Oberkiefern) der PRa unter Mastläufern im Sommer 1998. Diese waren kurz zuvor aus dem Versuchsbestand an Mastbetriebe ausgeliefert worden. Die Symptome waren so typisch ausgeprägt, dass sie ohne eine labordiagnostische Abklärung auf eine Infektion mit Pmt zurückgeführt wurden. Die betroffenen Tiere und die Gesamtpartie wurden auch ohne einen Erregernachweis reklamiert.

Bis zu diesem Zeitpunkt waren im Versuchsbestand selbst nur einzelne infrage kommende und ganz geringgradig ausgeprägte Anzeichen registriert worden. Da eine zunehmende Symptomatik und negative wirtschaftliche Folgen jedoch ausblieben, wurden diese weder durch die Betreuer und den Betriebsleiter, noch durch den Betreuungstierarzt mit der PRa in Zusammenhang gebracht. Deshalb unterblieb eine ätiologische Abklärung. Mittel- und hochgradige Symptome, charakteristische Nasen- und Oberkieferdeformationen, wie die im Mastbetrieb, traten nach übereinstimmenden Aussagen niemals auf. Auch bei labordiagnostischen Untersuchungen anderer Zielstellungen waren Pmt noch nicht als Nebenbefund in Erscheinung getreten. Die erste Notwendigkeit bestand daher in einer gezielten, gründlichen klinischen Untersuchung und im Nachweis bzw. Ausschluss der Erregeranwesenheit im Zuchtbestand.

Die 1. klinische Bestandsuntersuchung (3.1.4) wurde am 02. September 1998 gemeinsam durch den Anlagen- und den Betriebsleiter, den Betreuungstierarzt und einen Mitarbeiter des SGD durchgeführt. Dieses Datum markiert den offiziellen Beginn des Versuches. Im Rahmen dieser Herdenkontrolle

3 Eigene Untersuchungen

wurden 8 Sauen und 10 Zuchtläufer verschiedener Altersgruppen nach klinischen Gesichtspunkten ausgewählt und von diesen Tieren Nasentupferproben durch den SGD zur bakteriologischen Untersuchung in der aeroben Kultur und dem nachfolgenden Toxinnachweis im ELISA (3.1.4) entnommen.

Im Anschluss wurde monatlich jeweils eine Stichprobe von 30 gesunden Jung- und Stammsauen einer serologischen Kontrolle auf Antitoxine gegen Pmt (3.1.4) unterzogen. Zusätzlich wurden darüber hinaus klinisch verdächtige Tiere gezielt serologisch getestet. In Anlehnung an die Erfahrungen von BECHMANN u. SCHÖSS (1990), ALT et al. (1993) und ALT u. MEYER (1996) wurde die serologische Diagnostik bewusst gegenüber der bakteriologischen Untersuchung bevorzugt. Diese Verfahrensweise gründete auf der Hoffnung, einmal infizierte Tiere auch unabhängig von aktuellem Infektionsstatus, intermittierender Vermehrung und Ausscheidung anhand der Antitoxine identifizieren zu können.

Im März 1999 wurde eine tierindividuelle, sowohl bakteriologische, als auch serologische Gesamtbestandsuntersuchung aller Stammsauen veranlasst, um die Prävalenz der Pmt in der Herde zu ermitteln. Auf Grundlage der Kenntnis des Anteiles potenziell (Tiere mit Antitoxinen) bzw. nachweislich (Tiere mit Erregernachweisen) Pmt infizierter Zuchtschweine war unter Berücksichtigung des zu erwartenden wirtschaftlichen Aufwandes eine Entscheidung für oder gegen einen Sanierungsversuch zu treffen. Der zu beschreitende Weg war festzulegen.

Die Gesamtbestandsuntersuchung begann am 14. April 1999 parallel zu einer erneuten klinischen Kontrolle des Bestandes. Sie nahm aus arbeitsorganisatorischen Gründen mehrere Termine und Wochen in Anspruch und konnte erst am 20. Mai 1999 beendet werden. Damit fand die erste Phase ihren Abschluss.

Reagentenselektion nach Untersuchung von Produktionsgruppen mit dem Pmt-ELISA (Phase II)

Basierend auf den Ergebnissen der Phase I (3.2.1) fiel im Mai 1999 die Entscheidung für einen Sanierungsversuch der Zuchtherde durch die Selektion der potenziell (Antitoxinträger) und nachweislich (Keimträger) infizierten Schweine.

Aus wirtschaftlichen (zu erwartender Produktionsausfall tragender Sauen in relevanten Größenordnungen) und arbeitsorganisatorischen (personeller und Zeitaufwand) Gründen musste zunächst von weiteren Gesamtbestandsuntersuchungen Abstand genommen werden. An sensiblen und ökonomisch vertretbaren Schnittstellen des Produktionszyklogramms (3.1.2) wurden kontinuierliche Kontrollen jeweiliger Tiergruppen installiert. Die anschließende Selektion potenziell und nachweislich infizierter Zuchtschweine sollte laufende Infektketten unterbrechen und neue verhindern.

In den folgenden Monaten wurden wöchentlich die unten genannten Produktionsgruppen einer klinischen Begutachtung durch den Betreuungstierarzt, der bakteriologischen Untersuchung von Nasentupferproben und einer serologischen Kontrolle ihrer Blutproben auf Pmt-Antitoxine unterzogen:

1. Stammsauen am Ende der Aufzucht ihrer Ferkel und vor der erneuten Umstallung in den Belegstall
2. Zuchtläufer am Ende der Flatdeck-Phase (mit ca. 70 Lebenstagen), vor ihrer Einstallung in den Zuchtläuferaufzucht-, Jungsau- und Selektionsstall

3 Eigene Untersuchungen

3. Jungsaue nach ihrer Auswahl zur Zuchtbenutzung (mit ca. 160 Lebenstagen), vor ihrer Umstellung in den Belegstall und damit vor der Integration in die produktive Herde

Dabei erfolgte die bakteriologische Untersuchung der Nasentupferproben durch die aerobe Kultur und die anschließende Kontrolle im Pmt-ELISA und die Serologie im Pmt-Antitoxin-ELISA (3.1.4). Die Probengewinnung in dieser Phase wurde durch den Betreuungstierarzt des Bestandes realisiert.

Über dieses Schema hinaus fanden auch Anlass bezogene Teilbestandskontrollen ganzer Stallbelegungen bei Ausbruch akuter Atemwegserkrankungen oder einer Häufung positiver Untersuchungsbefunde statt. So wurden z. B. am 25. November 1999 und 24. Februar 2000 alle Tiere im Wartestall und am 27. April und 04. Mai 2000 die des Zuchtläuferaufzuchtstalls bakteriologisch und serologisch kontrolliert.

Sauen und Läufer mit positivem Befund in mindestens einer der Untersuchungen wurden umgehend aus dem Produktionszyklus entfernt und der Schlachtung bzw. der Vermarktung als Mastläufer zugeführt.

Wegen ihrer erhöhten Infektionsgefährdung (ALT u. MEYER 1996, SCHNÜLL 2001) wurde jeweils ein Teil der direkten Kontakttiere dieser Reagenten unmittelbar in die nächstfolgende Probenentnahme mit einbezogen. Da zur Ausbildung einer serologischen Reaktion auf den Erregerkontakt eine ungleich längere Zeitdauer zu erwarten war, blieb dabei ihre Kontrolle auf eine bakteriologische Untersuchung beschränkt.

Neben dieser selektiven Diagnostik wurden auch flankierende arbeitsorganisatorische und hygienische Schwerpunkte gesetzt. Dazu gehörten:

- die konsequente Einhaltung des Produktionszyklogramms
- die strikte Durchsetzung des Alles-rein-alles-raus-Prinzips in den Abferkel- und Flatdeck-Abteilen
- die Einhaltung der Serviceperioden mit gründlichster Durchführung der Reinigungs- und Desinfektion
- die unbedingte Vermeidung des Mischens verschiedener Tieraltersgruppen
- die konsequente und rechtzeitige Selektion chronisch kranker Tiere ([mehrfach] erfolglos behandelte und Tiere mit chronischen Entwicklungsstörungen)
- die Einschränkung des Personenverkehrs zwischen den Produktionsabteilungen auf das unbedingt notwendige Maß

Die Phase II des Versuchs dauerte vom Mai 1999 bis zum Oktober 2000 an.

Reagentenselektion nach Gesamtbestandsuntersuchungen mit der PCR-Methode (Phase III)

Schlussfolgernd aus den bis dahin erzielten Ergebnissen (3.2.2) musste im Oktober 2000 das diagnostische Verfahren vervollkommen und modifiziert werden:

1. Zur weiteren Erhöhung der Nachweisrate vorliegender Infektionen wurde die Gewinnung des bakteriologischen Untersuchungsmaterials ergänzt: Neben den bis dahin praktizierten Nasentupferprobenentnahmen erfolgte jeweils die gleichzeitige Tupferbeprobung des Rachenraumes der Probanden (3.1.4). Aufgrund der schon vorliegenden Erfahrungen (3.2.2) wurde in dieser Phase zunächst auf weitere serologische Untersuchungen verzichtet.

3 Eigene Untersuchungen

2. Um die Gefahr der Erregerübertragung von unerkannten Keimträgern auf ihre Kontakttiere einzuschränken, erfolgte der Übergang von der tierindividuellen gruppen- zur gesamtbestandsweisen Beprobung bzw. Untersuchung. Dabei wurden alle Zuchttiere des Bestandes (Sauen, Eber, Jungsauen und Zuchtläufer) ab dem Alter ihrer Umstallung aus dem Flatdeck- in den Zuchtläuferaufzucht- und Jungsauenbereich (mit ca. 10 - 12 Wochen und einer Lebendmasse von ca. 25 - 30 kg) und älter in die Kontrollen einbezogen. Wegen der vorher zu geringen Körpergröße und sich dabei ergebenden technischen Schwierigkeiten setzte die Gewinnung der Rachentupferproben erst ab einer Lebendmasse von etwa 50 kg an ein.
3. Als eine deutlich sensitivere Erreger-Nachweismethode kam in dieser Phase die PCR (3.1.4) zum Einsatz.

Durch Verbesserungen der Organisation, eine zunehmende Routine bei den Probenentnahmen und die sich reduzierende Anzahl von Tieren mit Pmt-Nachweisen, die auch den Umfang notwendiger Nachuntersuchungen unmittelbarer Kontakttiere abnehmen ließ, konnten die zeitlichen Perioden der bakteriologischen Gesamtbestandsuntersuchungen in großen Schritten verkürzt werden: Während sich der erste Untersuchungsgang noch über fast 8 Wochen erstreckte, beanspruchten der zweite noch etwa 2 Wochen und der dritte nur noch 2 Tage (Tab. 4).

Zwischen den Gesamtbestandsuntersuchungen erfolgten jeweils Wiederholungskontrollen der unmittelbaren Kontakttiere der erkannten Keimträger, ihrer direkten Boxengefährtninnen.

Tab. 4: Perioden, Zwischenintervalle und Anzahlen beprobter Tiere der Gesamtbestands- und Wiederholungsuntersuchungen in der Phase III

Zeiträume der Untersuchungen	Anzahl untersuchter Tier	Bemerkungen
23.10.2000 bis 14.12. 2000	854	1. Gesamtbestandsuntersuchung einschließlich Wiederholungen der Boxengefährtninnen von Keimträgern
03.01.2001	152	nur Boxengefährtninnen der Keimträger aus 1. Gesamtbestandsuntersuchung
11.01.2001	153	nur Boxengefährtninnen der Keimträger vom 03.01.2001
22.01.2001 bis 05.02.2001	767	2. Gesamtbestandsuntersuchung einschließlich Wiederholungen der Boxengefährtninnen der Keimträger
28.02.2001 / 01.03.2001	677	3. Gesamtbestandsuntersuchung
28.05.2001 / 29.05.2001	705	Gesamtbestandsuntersuchung als Kontrolle durch den Schweinegesundheitsdienst

Einsetzende Erfolge ermutigten trotz enormer Untersuchungskosten zur Verkürzung der Intervalle zwischen den einzelnen Untersuchungsserien. Auch die Zeitabstände zu den Wiederholungsuntersuchungen der Kontakttiere wurden verringert (Tab. 4).

Aus dem Prinzip eines direkten Erregernachweises auf und in den Schleimhäuten der Nasen- und Rachenhöhle als räumlich weit gestalteter Körpergebilde resultierte, dass die Qualität der Probengewinnung, die Intensität des Bestreichens großflächiger Schleimhautareale (3.1.4) und so das Arbeitstempo das Ergebnis stark beeinflussen konnten: Die Probenentnahmen der ersten 3 Gesamtbestands- und auch der Wiederholungsuntersuchungen wurden allein durch die tierärztliche Betreuungspraxis realisiert. Für die abschließende Gesamtbestandskontrolle führten die Tierärzte des Schweinegesundheitsdienstes, als Mitarbeiter eines unabhängigen Organs des Öffentlichen Dienstes objektiv und ohne kommerzielles Interesse am Ausgang des Verfahrens, die Probenentnahmen selbst aus. Mit dieser Abschlusskontrolle endete die Phase III des Sanierungsversuchs am 29. Mai 2001.

Kontinuierliche Überwachung (Phase IV)

In dieser 4. Phase des Versuches musste der erreichte Status des Bestandes regelmäßig kontrolliert und bestätigt werden.

Dazu erfolgten jeweils klinische Bestandsuntersuchungen im Quartalsabstand durch den SGD. Im Rahmen dieser Bestandsbesuche wurden jeweils Nasen- und Rachentupferproben in einer zufälligen Stichprobe von 50 Tieren bis zur Produktionsaufnahme der betriebseigenen Mastanlage entnommen und mit der PCR-Methode auf Pmt-Genomfragmente untersucht. Um alle Teilbestände, verstärkt aber auf Grund ihres Alters und ihrer Entwicklungsumstände besonders prädisponierte Tiergruppen gezielt zu kontrollieren, erfolgte die Aufteilung dieser Stichproben jeweils wie aufgeführt:

- 18 bis 19 Sauen, - mindestens 1, besser 2 Eber (als Sucheher im Belegstall jeweils mit intensivem Rüsselkontakt zu allen belegten weiblichen Zuchtschweinen und deshalb besonders geeignete Indikatortiere)
- 10 zur Zuchtbenutzung vorgesehene, bereits selektierte Jungsauen (160 - 230 Lebenstage alt) und
- 20 Zuchtläufer unterschiedlicher Alters- und Lebendmassegruppen (70 - 160 Lebenstage alt) (unterhalb von ca. 50 kg nur durch Nasentupfer beprobt)

Nach der Fertigstellung und Beschickung der eigenen Mastanlage im Juni 2003 wurden die jeweilige Stichprobengrößen auf 60 Tiere erhöht und die Aufteilung wie nachfolgend genannt modifiziert:

- 9 Sauen und 1 Eber
- 10 selektierte Jungsauen (zwischen 160 und 230 Lebenstagen alt)
- 20 Zuchtläufer verschiedener Alters- und Lebendmassegruppen (zwischen 70 und 160 Lebenstagen alt) und
- 20 Mastschweine verschiedener Alters- und Lebendmassegruppen (zwischen ca. 70 und ca. 150 Lebenstagen alt)

Aus gegebenem Anlass (3.2.4) erfolgte am 11. und 12. März 2003 nochmals eine tierindividuelle bakteriologische Kontrolle aller Zuchttiere (Läufer, Jung- und Stammsauen, Eber) des Bestandes mit der PCR-Methode nach Probenentnahmen durch den SGD.

Entsprechend der Richtlinie „Hygieneprogramm Schwein“ des Ministeriums für Landwirtschaft und Naturschutz (MLN) bzw. ihrer folgenden Aktualisierung vom 25. Juni 2003 und der Beihilfesatzung „PRRS (Porzines Respiratorisches und Reproduktives Syndrom) Schwein“ der Tierseuchenkasse wurde die Herde viertel- bzw. halbjährlich auf Antikörper gegen Erreger anzeigepflichtiger Tierkrankheiten und des PRRS-Virus serologisch untersucht. Die jeweilige Stichprobengröße von jeweils 30 Tieren ordneten die Veterinärbehörden des Landkreises an. Die gewonnenen Blutproben

3 Eigene Untersuchungen

konnten gleichzeitig zu serologischen Untersuchungen auf Antitoxine gegen Pmt im ELISA genutzt werden, die die diagnostische Überwachung ergänzten.

Beim Auftreten fraglicher bakteriologischer Untersuchungsergebnisse im Rahmen der stichprobenweisen PCR-Analysen wurde das betroffene Schwein, sofern es sich um ein Einzeltier handelte, umgehend geschlachtet. Gleichzeitig wurden intensive Abklärungsuntersuchungen unter den direkten Kontakttieren in einer Stichprobengröße von 10 - 20 Boxen- bzw. Stallgefährtinnen aus dem unmittelbaren Umfeld des Reagenten eingeleitet. Dabei wurde die PCR-Methode jeweils durch parallele Untersuchungen in der aeroben Kultur mit anschließendem Toxinnachweisversuch im Pmt-ELISA an 2 staatlichen Untersuchungämtern ergänzt. In zeitlichem Abstand von 14 bis 21 Tagen wurden diese Untersuchungen wiederholt und die bereits bakteriologisch beprobten Kontakttiere bevorzugt teilweise in die nächste serologische Kontrolle einbezogen.

Zur Erleichterung der Übersicht sind die 4 Zeitphasen des Sanierungsversuches nochmals chronologisch mit ihrer Dauer, ihren Inhalten und ihren verfahrenstechnischen Besonderheiten in der Tabelle 5 zusammen- und in der Abbildung 3 schematisch dargestellt.

Tab. 5: Zeitphasen des Sanierungsversuchs in der Übersicht

Phase	Bezeichnung, Zeitraum	Inhalt, Verfahren
I.	Statuserhebung September 1998 bis Mai 1999	<ul style="list-style-type: none">– Nachweis der Pmt– Bestimmung ihrer Verbreitung in der Herde (Antitoxin- / Erregernachweis)
II.	Erregerverdünnung Mai 1999 bis Oktober 2000	<ul style="list-style-type: none">– Selektion nach Antitoxin- (= Serologie) und Erregernachweisen (= Bakteriologie) in Gruppen– Nutzung des Pmt- und des Pmt-Antitoxin-ELISAs
III.	Eigentliche Sanierung Oktober 2000 bis Mai 2001	<ul style="list-style-type: none">– Keimträgers Selektion nach Erregernachweis– Gesamtbestandsuntersuchungen– Kombination von Nasen- und Rachentupfern– Nutzung der PCR
IV.	Kontrolle / Überwachung Mai 2001 bis Dezember 2004	<ul style="list-style-type: none">– Erfolgskontrolle– Herdenüberwachung– klinische Bestandsuntersuchungen– stichprobenweise bakteriologische und serologische Untersuchungen

3.1.4 Diagnostik

Das Spektrum der Diagnostik beinhaltete klinische Untersuchungen (Bestandsdurchgang und gründliche Adspektion - Saugferkel bis Jungsau und produktive Herde), Probenentnahmen für weiterführende labordiagnostische Analysen bei gezielt oder zufällig ausgewählten Probanden (Phasen I und IV), Produktionsgruppen (Phase II) bzw. dem Gesamtzuchtschweinebestand (Phase III), sowie serologische und bakteriologische Untersuchungen.

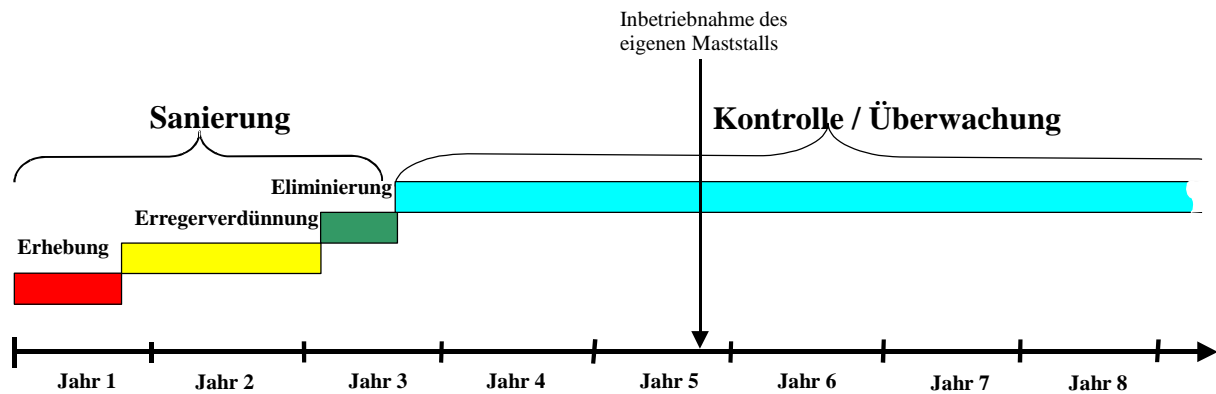


Abb. 3: Schematische Darstellung des Ablaufs des Sanierungsversuchs

Klinische Untersuchungen

Wie in der Anlage 2 Abschn. 2 Nr. 4 und der Anlage 6 der Schweinehaltungshygieneverordnung (SchHaltHygV) vom 07. Juni 1999 vorgeschrieben, musste der Bestand spätestens seit dem Erscheinen dieser Vorschrift einer täglichen Gesundheitskontrolle durch das Betreuungspersonal und den Anlagenleiter unterliegen. Diese wurden durch 1-mal wöchentlich stattfindende klinische Untersuchungen des Betreuungstierarztes ergänzt.

Mit dem Beginn des Sanierungsversuchs konzentrierten sich diese täglichen und wöchentlichen Untersuchungen auch gezielt auf klinische Anzeichen der PRa.

Die Aufmerksamkeit richtete sich speziell auf folgende Symptome:

- schniefend-schnupfende Atemgeräusche, mit oder ohne Nasenausfluss
- verstärkter Tränenfluss
- Sekretbahnen in den medialen Augenwinkeln
- dorsale, uni- oder bilaterale Auftreibungen der Nasen bzw. der Oberkiefer
- scheinbare oder tatsächliche Verkürzung der Nasen (Brachygnathia superior), eventuell mit Querfalten der Haut
- konkave Ausprägung der Ossa frontale und nasale (sogenannte „Sattelung“ der Nasen“)
- laterale oder dorsolaterale Deformation der Nasen / Oberkiefer
- Epistaxis

(DE JONG u. NIELSEN 1990, IKOMA 1994, UDOVIČIĆ et al. 1996)

Tiere mit einem oder mehreren dieser Symptome wurden in jeder Phase des Sanierungsversuchs gezielt, ggf. auch mehrmals, in die Probenentnahmen und die weiterführenden labordiagnostischen Kontrollen einbezogen.

Eine weitere Ergänzung erfuhren diese regelmäßigen Untersuchungen durch sporadisch bzw. anlassbezogene (z. B. zur Auswertung vorliegender Befunde und Beratung über das weitere Vorgehen) klinische Kontrollen des SGD. Die Termine dieser Besuche in den Phasen I bis III sind in der Tabelle 6 zusammengestellt.

In der Überwachungsphase IV erfolgten die klinischen Untersuchungen des Zucht- und, nach dessen Belegung, auch des Mastbestands durch den SGD periodisch im Abstand von jeweils 3 Monaten.

Tab. 6: Klinische Untersuchungen des Bestandes durch den SGD in den Phasen I bis III

Phase	Jahr	Daten der Untersuchungen
I	1998	02.09.
I	1999	14.04.
II	1999	30.09.
II	2000	03.02., 02.03., 23.03., 22.05., 08.08.
III	2000	23.10.
III	2001	22.02., 23.03., 28./29.05.

Probenentnahme und -aufbereitung

Entnahme von Blutproben

Die zur serologischen Untersuchung notwendigen Blutproben wurden aus der Vena jugularis der mit einer Oberkieferschlinge fixierten Probanden unter Schaffung eines Minderdruckes durch eine 5 ml-Einwegspritze mit Kanülen angepasster Längen und Stärken gewonnen. Das native Blut wurde dabei direkt nach der Entnahme in Glasröhrchen ohne Wandbeschichtungen und Zusätze umgefüllt, die anschließend mit Gummistopfen verschlossen wurden. Auf dem jeweils schnellsten Weg gelangten die Proben in das Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern (LVL M-V), wo innerhalb der nächsten Stunden die Laboruntersuchungen begannen.

Entnahme von Nasentupferproben

Die Entnahme der Nasentupferproben erwachsener Zuchttiere für die bakteriologischen Untersuchungen in der aeroben Kultur mit anschließendem Toxinnachweis in den Phasen I und II des Versuches erfolgte mit Dacron-Tupfern am Plastikschaft (Ø 6 mm, Schaftlänge 150 mm) der Firma em-te Vertrieb Hamburg, ebenfalls am fixierten Tier. Nach dem trockenen Reinigen der Rüsselscheiben und der Nasenöffnungen wurden diese Tupfer vorsichtig und möglichst ohne eine Berührung der äußeren Haut, nacheinander über die Nasenlöcher in die Tiefen beider Nasenhöhlen bis an die Conchae nasales und, wenn möglich, an diesen entlang eingeführt. Durch behutsame, aber entschiedene Dreh- und sagittale Bewegungen der Tupfer, vor allem an den medialen und lateralen Nasenhöhlenwänden, auf dem -boden und am -dach entlang, konnten Sekrete und Zellen der Schleimhautmucosa abgestreift werden (Abb. 4 - 6). Für die Nasentupferprobenentnahme bei Ferkeln und Läufern in diesen Phasen, mit gleichem Vorgehen ausgeführt, standen kleinere Calcium-Alginat-Tupfer an einem Aluminiumschaft (Ø 2 mm, Schaftlänge 150 mm) zur Verfügung. Um ein Austrocknen und die Kontamination mit Stallstaub und bakteriellen Verunreinigungen zu verhindern, wurden die Tupfer unmittelbar nach der Entnahme in em-te-Transportröhrchen mit klarem modifiziertem Amies-Medium eingeführt.

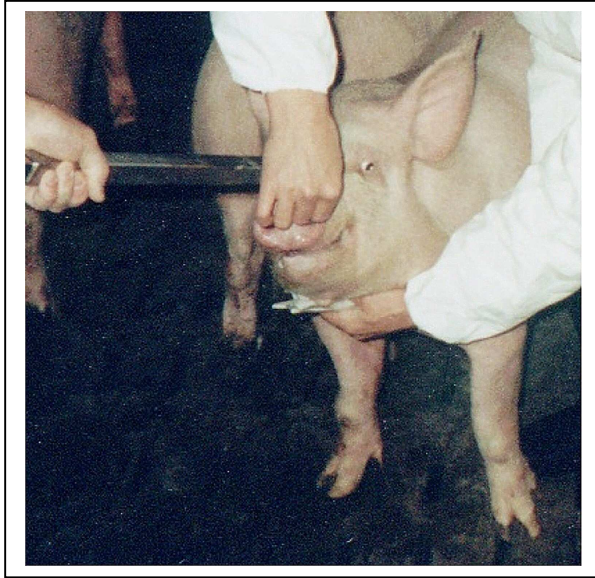


Abb. 4: Nasentupferprobenentnahme am fixierten Schwein (Ansicht von vorn)

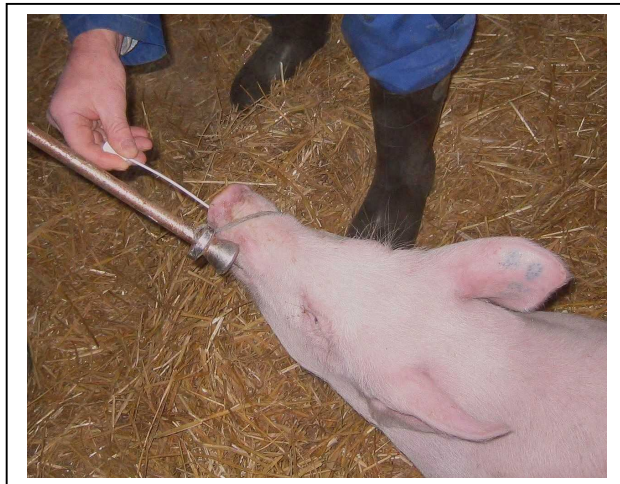


Abb. 5: Nasentupferprobenentnahme am fixierten Schwein (Ansicht von oben)

Notwendigerweise mussten die entnommenen Tupfer direkt tierindividuell gekennzeichnet werden. Für die beprobten Eber, Jung- und Stammsauen wurde die Herdennummer der Kunststoffohrmarke (auch im Sauenplaner erfasst), für die Zuchtläufer die Ohr-Tätowienummer auf dem Transportröhrchen vermerkt. Die so vorbereiteten Röhrchen wurden gesammelt und nach dem Abschluss der Arbeiten auf direktem Wege zur Untersuchung in das LVL M-V gebracht.

Die Entnahme der Nasentupferproben in der Phase III verlief ebenfalls, wie oben beschrieben. Allerdings mussten dabei auf Grund der im Ausschwemmschritt zur Aufbereitung des Materials eingesetzten Reagenzien und wegen möglicher Hemmwirkungen der Reaktionsschritte der PCR Abstrichbestecke (Nr. 09.551.8006 - 12 x 168, Kunststoffstab, Dacron-Tupfer, weiß, mit Amiesmedium) der Firma Nerbe plus zum Einsatz kommen. Wegen der hohen Spezifität und Sensitivität der PCR-Methode konnte vor der Probenentnahme auf eine vorherige trockene Reinigung der Rüsselscheiben und Nasenöffnungen in der überwiegenden Mehrheit der Fälle - Ausnahmen bildeten stark verschmutzte Nasen - verzichtet werden. Diese hätte den Ablauf beim Umfang der Probenentnahmen während der Gesamtbestandsuntersuchungen erheblich verzögert.

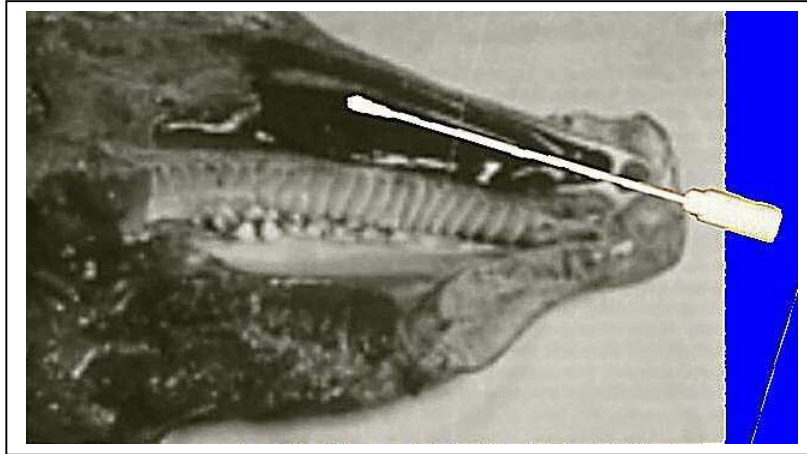


Abb. 6: Lage des Tupfers bei der Nasenprobenentnahme (schematisch)

Das Verbringen der gewonnenen Tupferproben in die dafür vorgesehenen Kunststoffröhrchen mit Amiesmedium, ihre Kennzeichnung, Sammlung und der Transport zur weiteren Untersuchung an das DNA-Labor Nord in Rostock-Warnemünde verliefen, wie für die Phasen I und II dargestellt.

Entnahme von Rachentupferproben

Zur Rachentupferprobenentnahme kamen nach einer Skizze des niederländischen Schweinegesundheitsdienstes in Deventer gefertigte Edelstahlmaulkeile nach DE JONG, eine in diese eingesetzte Mag-lite® Ministablampe der Firma Solitaire und ein Verlängerungsstab 45 cm für Probenentnahmetupfer der Firma Albrecht zur Anwendung (Abb. 7).



Abb. 7: Geräte und Hilfsmittel zur Rachentupferprobenentnahme

Mit dem Einsetzen des Maulkeils am fixierten Schwein durch eine Drehbewegung des Handgelenks wurde der Rachenraum über die eröffnete Maulhöhle zugänglich (Abb. 8). Die mit dem Stab verlängerten Tupfer (Nerbe plus) wurden durch die Aussparung des Keiles hindurch und über den Zungenrund hinweg in die Rachenhöhle geführt, wo mit vertikalen und sagittalen Bewegungen beidseitig am lateralen Rachenring Sekrete und Schleimhautpartikel aus der Nähe der Tonsillen oder von diesen selbst aufgenommen wurden (Abb. 9). Die weitere Verfahrensweise entsprach der für die Nasentupferproben in der Phase III.

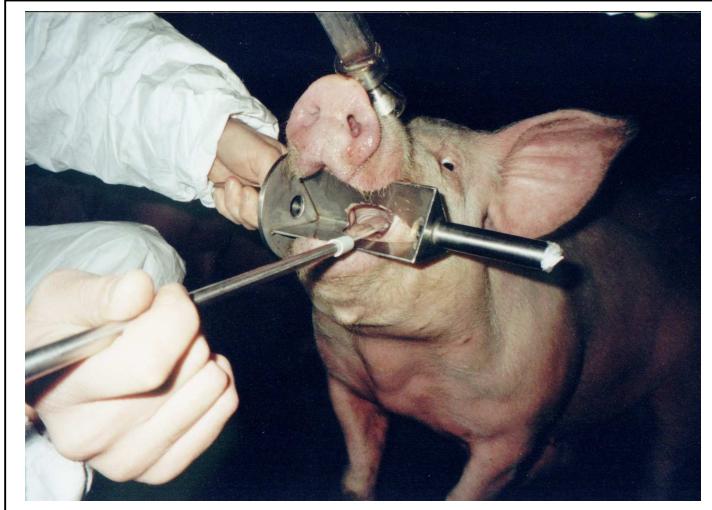


Abb. 8: Einsetzen des Maulkeils (Modell nach DE JONG) und des Tupfers am fixierten Probanden



Abb. 9: Rachentupferprobenentnahme

Bakteriologische Untersuchungen

Aerobe Kultur und Toxinnachweis im ELISA

Zur bakteriologischen Kontrolle der Anwesenheit der Pmt an den Nasentupfern und damit auf den Nasenschleimhäuten der Probanden in den Phasen I und II am LVL M-V kam der PMT-ELISA (Code Nr. K 0009) der Firma DakoCytomatik zum Einsatz.

Das Prinzip dieses doppelten Antikörper-Sandwich-[Einschritt]-ELISAs wurde im Abschnitt 2.9.4 „Nachweis des Toxinbildungsvermögens - Nachweis des Toxins und seiner Wirkungen - Immunologische Nachweisverfahren“ beschrieben. Um das Synthesevermögen von Keimen zu testen, die den Tupfern möglicherweise anhafteten, mussten die Bakterien vermehrt werden. Dazu diente eine aerobe bakteriologische Primäkultur auf einem selektiven Agarmedium mit 5 % Schafblut, 2 µg Neomycinsulfat und 3,5 µg Bacitracin in Petrischalen (Ø 90 mm).

Im Fall der beschriebenen Untersuchungen wurde diese durch eine Kultur auf einem TRBZ- (Traubenzucker- / Blut-)Agar ergänzt. Nach dem Ausstreichen der Tupfer, i. d. R. unmittelbar nach deren Anlieferung im Labor (in Ausnahmefällen, bei einer Anlieferung nach 16.00 Uhr erfolgte die Lagerung bis zum nächsten Morgen bei 4 - 8 °C), wurden die Platten ca. 18 - 24 Stunden bei 37 °C inkubiert.

Durch die Zugabe von 2 ml destillierten Wassers konnten gewachsene bakterielle Kulturen und eventuell von ihnen gebildete Toxine mit einem Drigalski-Spatel und einer Pipette „geerntet“ und abgeschwemmt werden. Nach der Inkubation von jeweils 200 µl der Kulturextrakte bei 37 °C über ca. 24 Stunden zum Präparieren der Bakteriensuspension begann die Untersuchung mit dem ELISA.

Die folgenden Arbeitsschritte wurden jeweils in einem Doppelansatz realisiert: Je 50 µl der erhaltenen Bakterien-Suspension aus jeder Kultur wurden, parallel zu 2 Ansätzen mit je 50 µl destillierten Wassers als Negativkontrollen und 2 Ansätzen mit je 50 µl eines rekonstituierten, positiven Kontroll-Antigens (200 ng affinitäts-isoliertes, natives, lyophilisiertes DNT in 1 ml Rekonstitutionspuffer mit Detergenz und 0,01 % Merthiolat als Konservierungsmittel) als definierte Positivkontrollen mit jeweils 50 µl des Konjugats (Peroxidase konjugiertes Fab'-Fragment von Kaninchen-Anti-DNT-Antikörpern in Puffer mit Protein und 0,05 % Merthiolat als Konservierungsmittel, mit blauer Identifikationsfärbung) und den im Testsystem aufgetragenen monoklonalen Maus-Anti-DNT-Antikörpern abgedeckt für 1 Stunde bei 20 - 25 °C schüttelnd inkubiert.

Nach dem 4-maligen Waschen der Ansätze mit destilliertem Wasser zum Entfernen der nicht gebundenen Peroxidase-Anti-DNT-Komplexe erfolgte die Zugabe von je 100 µl unmittelbar vor der Anwendung präparierten chromogenen Substrates (O-Phenylenediamine- dihydrochloride - OPD). Die Farbreaktion wurde nach einer 10-minütigen Inkubation bei Dunkelheit und einer Raumtemperatur von 20 - 25 °C mit der Zugabe von 100 µl Stopplösung (0,5 M Schwefelsäure - H₂SO₄) abgebrochen.

Die Messung der Farbumschlagsintensität mit der Bestimmung der Absorptionsfähigkeit der entstandenen Lösung (optische Dichte = OD) erfolgte bei einer Lichtwellenlänge von 490 nm und mit einem Referenzfilter bei 650 nm. Die Berechnung des Ergebnisses für die Einzelproben basierte auf einem Vergleich mit den für die Negativ- und Positivkontrollen ermittelten OD-Mittelwerten (da jeweils 2 Ansätze). DNT galt als in einer Abschwemmprobe vorhanden, wenn der OD-Mittelwert beider Ansätze dieser Probe $\geq 0,1 + OD_{\text{Negativkontrolle}}$ und gleichzeitig $\geq 5 \times OD_{\text{Negativkontrolle}}$ betrug. Die absoluten Höhen der OD-Werte eröffneten gleichzeitig auch die Möglichkeit einer, auf Erfahrungswerten beruhenden Qualitätskontrolle der Testdurchführung.

Nachweis von Genomfragmenten der Pmt (PCR)

Der Nachweis des Dermonekrotoxins (*tox*A-Gen) der Pmt und damit der Existenz der Erreger im eingesandten Nasen- und Rachentupfermaterial und letztlich in den Probanden wurde im DNA Labor Nord Rostock-Warnemünde mit der PCR-Methode nach HOTZEL et al. (1996) geführt. Niederländische Erfahrungen bestätigten für die Analyse von bis zu 4 Tupfern in einem Pool eine hinlängliche diagnostische Sicherheit (persönliche Mitteilung, Dr. Marten de Jong, Deventer, 2000) mit der dort angewandten PCR. Wegen des hohen Kostenaufwandes je Einzelprobe erfolgte deshalb hier die Untersuchung der Nasen- und der Rachentupferproben je eines Tieres jeweils gemeinsam in einem Probenansatz.

Dazu wurden die Tupfer mit den anhaftenden Sekreten und Zellen, hier noch Nasen- und Rachentupfer getrennt, in 500 µl Lysepuffer (100 mM Trispuffer, pH 8,5, 0,05 %, Tweenlösung 20) aufgenommen. Nach einem 1-minütigen Vortex-Vorgang, dem Versetzen von Tupfern und Lösung in mechanische Schwingungen zum Herauslösen der festen Bestandteile, wurden sie bei 12 000 G 30 s lang zentrifugiert, um Keime und Zellen zu pelletieren. Nach dem Zentrifugieren (2 min) der entnommenen Tupfer, um Flüssigkeitsrückstände restlos zu gewinnen, wurden die beiden entstandenen Fraktionen zusammengeführt. Mit dem Poolen der Lösungen von jeweils Nase und Rachen eines Schweines wurden sie zur Ausgangsprobe dieses Tieres. Um die DNA freizusetzen erfolgte in diesen Ausgangsproben nach erneuter Zentrifugation und dem Zusatz von 50 µl Lysepuffer und 20 µl Proteinase K (20 mg / ml) der Zellaufschluss durch die Proteinverdauung bei einer 2-stündigen (60 °C) Inkubation. Die Proteinase wurde danach bei 97 °C über 15 Minuten denaturiert.

Die sich anschließende, eigentliche PCR erfolgte in einem Thermocycler der Firma Hybaid. Nach einem 1-maligen, 2-minütigen Denaturierungsschritt bei 94 °C umfasste sie 35 Zyklen (Denaturierung: 30 s, 94 °C; Hybridisierung: 60 s, 61 °C; Polymerisierung: 120 s, 72 °C) und wurde mit einer 5-minütigen Primerextension bei 72 °C abgeschlossen. Sie war auf den Nachweis des hochspezifischen 1,5 kb-Hind III-Fragments im Vektor pKUN 19 des Dermonekrotoxins im *Pmt*-Genom gerichtet (siehe 2.9.4 Nachweis des Toxinbildungsvermögens - Aufdeckung der genetischen Potenz zur Toxinbildung, KAMPS et al. 1990). Die PCR-Ansätze beinhalteten die folgenden Reagenzien: 5 µl Probenüberstand, 5 µl 10 x *Taq*-Puffer, 5 µl dNTP-Mix, 1 µl Primer PDNT-1 (20 pmol / µl), 1 µl Primer PDNT-2 (20 pmol / µl), 0,5 µl *Taq*-Polymerase (2 Einheiten) und 1,5 µl MgCl₂ (50 mM) und wurden auf ein Volumen von 50 µl mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt. Als Primer für die Reaktion wurden die, das Fragment im *toxA*-Genom begrenzenden Regionen folgender Nucleinsäure-Sequenzen verwendet:

PDNT-1: 5'-AAG CTT TAG CTC AAC GCT TTG AAA-3'

PDNT-2: 5'-AAG CTT TCT GAA AGC ACC ATT AAT-3'.

(A = Adenin, C = Cytosin, G = Guanin, T = Thymin)

Nach einer Elektrophorese in 1,5 %igem Ethidiumbromid gefärbtem Agarosegel wurde das in den vorangegangenen Reaktionen exponentiell vervielfältigte Plasmid unter UV-Licht durch seine charakteristische Bandenstellung sichtbar. Die Ergebnisse der Reaktionen wurden photooptisch dokumentiert (Abb. 10). Als Positivkontrolle diente das isolierte Plasmid. Für die Negativkontrolle wurde an Stelle der DNA einer Probe bidestilliertes Wasser angesetzt.

Durch die kurzfristig mit hohem Automatisierungsgrad und Durchsatz realisierten Analysen (Bearbeitungsbeginn schon mit dem Probeneingang) und die umgehende Befundübermittlung per Fax konnten im Zuchtschweinebestand schon wenige Stunden nach der Probenentnahme die Selektion, Isolation und weitere Bearbeitung der identifizierten Keimträger eingeleitet werden.

Serologische Untersuchungen

Dem Nachweis von Antitoxinen gegen das DNT im Serum von mit *Pmt* infizierten oder dagegen geimpften Tieren diente eine Erweiterung des DakoCytomation PMT-ELISAs (Code Nr. K 0038) als qualitativer Screening-Test, ebenfalls am LVL M-V. Dazu kamen die gleichen Kits, das gleiche System, wie für den Nachweis des DNT in bakteriologischen Kulturen (DakoCytomatik PMT-ELISA, Code Nr. 0009), um einige Komponenten ergänzt und zum indirekten ELISA modifiziert, zum Einsatz.

3 Eigene Untersuchungen

Die Suche nach DNT-Antitoxinen in Kolostrumproben wäre damit ebenfalls prinzipiell möglich gewesen.



Abb. 10: Photooptische Dokumentation der erzielten PCR-Ergebnisse
(Bandenmuster von 9 Proben, Probe 2, 3, 5 und 8 positiv, übrige Proben negativ,
M: Kontrolle des Längenstandards der 1,5 kb-Fragmente, -K: Negativkontrolle,
+K: Positivkontrolle)

Vor der eigentlichen Testdurchführung mussten je 30 µl der zu prüfenden Serumproben, jeweils im Doppelansatz, parallel zu 2 Ansätzen mit je 30 µl positiven Anti-DNT-Referenzserums (mit 15 mmol / l Natriumazid als Konservierungsstoff) als Positivkontrolle, 2 Ansätzen mit je 30 µl negativen Referenzserums (mit 15 mmol / l Natriumazid als Konservierungsstoff) als Negativkontrolle und 2 Ansätzen aus 30 µl destillierten Wassers als Pufferkontrolle, mit jeweils 40 µl standardisierten Antigens (500 ng affinitätsisoliertes, natives, lyophilisiertes DNT mit Trägerprotein und 20 µg Merthiolat als Konservierungsmittel in 3 ml gepufferter Saline mit Detergenz und 0,05 % Merthiolat als Konservierungsmittel, zur Erkennung blau gefärbt) und je 30 µl destillierten Wassers (zur Auffüllung des Volumens) abgedeckt für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert werden. Dabei konnten eventuell im Serum vorhandene DNT-Antitoxine das eingebrachte, standardisierte Antigen neutralisieren.

Der weitere Ablauf (mit modifizierten Arbeitsschritten) folgte dem des DNT-Nachweises im DakoCytomation PMT-ELISA (Code Nr. 0009): Gemeinsam mit je 50 µl des Konjugats wurden je 50 µl eines jeden Vorinkubationsansatzes und den, dem System anhaftenden Anti-DNT-Antitoxinen abgedeckt 45 Minuten lang bei Raumtemperaturen von 20 -25 °C schüttelnd inkubiert.

Nach dem 4-maligen Waschen mit destilliertem Wasser, der Zugabe von je 100 µl des chromogenen Substrats (OPD) und, nach einer abgedeckten Inkubation für 15 Minuten bei Dunkelheit und 20 – 25 °C, dem Beenden der Farbreaktion mit 100 µl Stopplösung (H₂SO₄) konnte die Messung der OD-Werte bei 490 nm und mit einem Referenzfilter für 660 nm Lichtwellenlänge erfolgen. Beim Vergleich der Beträge für die Probenmittelwerte (aus den Doppelansätzen) mit denen der Negativ- und der Positivkontrollen war zu berücksichtigen, dass sich jetzt Serumproben ohne Antitoxine auf Grund des indirekten Testprinzips durch eine hohe Farbintensität und optische Dichte auszeichneten.

So lag der cutt-off (Wert, unterhalb dessen alle Probenmittelwerte - wegen des Doppelansatzes - als positiv zu bewerten waren) bei $0,5 \times \text{OD-Wert der Pufferkontrolle}$ (Erwartungswert für den $\text{OD}_{\text{Pufferkontrolle}} = 1,4$, Mindestwert für die Qualitätskontrolle = 0,6), während nach den Maßgaben der Qualitätskontrolle der Wert für die Positivkontrolle höchstens 25 % (Erwartungswert < 5 %), der für die Negativkontrolle mindestens 65 % (Erwartungswert > 90 %) des OD-Wertes der Pufferkontrolle betragen mussten. Probenmittelwerte zwischen dem cut-off und 65 % des $\text{OD}_{\text{Pufferkontrolle}}$ -Wertes waren als unklar zu bewerten, mit verschiedenen Verdünnungen zu wiederholen oder mit fraglichem Ergebnis zu deklarieren.

Vergleich der ermittelten relativen Häufigkeiten

Die relativen Häufigkeiten auftretender positiver Befunde verschiedener Gruppen und Zeiträume wurden jeweils mit der Demonstrations- und Testversion des Statistikprogramms BiAS für Windows 7.07-12/2003 miteinander verglichen (ACKERMANN 2003). Dieses Programm basiert auf den Ausführungen der entsprechenden Kapitel im Lehrbuch von SACHS (1992).

3.1.5 Separation und Behandlung der Reagenten

In der Phase II des Sanierungsversuches waren nur Läufer (70 - 160 Lebenstage alt), Jungsauen (160 - 230 Lebenstage alt) vor ihrer Zuchtbenutzung und güste Sauen am Ende der Laktation vor der nächsten Belegung beprobt, ggf. als potenzielle oder nachgewiesene Keimträger identifiziert worden. Die konsequente Entfernung dieser Reagenten aus dem Bestand und ihre Verwertung durch die Schlachtung belastete die Remontierungsrate und stellte ein Hemmniss für die Leistungsselektion und Zuchtarbeit dar. Sie führte zu einem deutlichen Rückgang der biologischen Gesamtleistungen der Herde (Tab. 7 und 8) und hatte negative Auswirkungen auf das wirtschaftliche Betriebsergebnis. Mit dem Übergang zur bestandsweisen Einzeltierkontrolle aber wurden auch Sauen mit nachgewiesener Trächtigkeit als Pmt infiziert ermittelt. Die sofortige Schlachtung dieser klinisch gesunden Tiere in z. T. fortgeschrittenem Trächtigkeitsstadium (3.2.3, Tab. 14) hätte die Produktionsrentabilität direkt beeinflusst und verbot sich aus ethischen und ökonomischen Gründen.

Eine erwogene separate Aufstallung der Sauen außerhalb der Zuchtanlage musste nach Prüfung der seuchenhygienischen und arbeitstechnischen Voraussetzungen verworfen werden. In der gebotenen Kürze der Zeit war auch praktisch keine Möglichkeit zu schaffen, die Tiere unter akzeptablen Stallbedingungen abferkeln und die Ferkel aufziehen zu lassen. Die Konsequenz bestand darin, die identifizierten Keimträger und ihre Nachzucht in der unmittelbaren Nähe des übrigen Zuchttierstapels so zu separieren, dass die Gefahr einer Übertragung auf bis dahin nicht infizierte Tiere stark eingeschränkt war.

Dazu wurden die betroffenen Tiere unmittelbar mit dem Bekanntwerden ihres Infektionsstatus in die 24, an der Stirnseite des Wartestalles befindlichen Einzeltierboxen (3.1.2, Tab. 2; 9.9, Abb. 16) aufgestellt. Die Kopfenden dieser Boxen lagen gangfern der Stallwand zugekehrt, woraus sich eine Entfernung der Rüssel von mindestens 3 m bis zu den nächsten, infektionsgefährdeten Tieren ergab. Zufällig waren gerade unmittelbar über diesen Einzeltierboxen die 4 Ablüfter des Stalles installiert, von denen 2 in der Winterlüftung arbeiteten. Das Absaugen der Brauchluft an genau diesen Punkten konnte das Risiko aerogener Tröpfcheninfektionen zusätzlich minimieren.

3 Eigene Untersuchungen

Tab. 7: Entwicklung wichtiger Parameter der biologischen Herdenleistungen im Sanierungszeitraum

Produktionsjahr	Ant. JS-Beleg. in %	Abferkelrate ges. in %	Würfe je Sau / Jahr	leb. geb. Ferkel je Sau / Jahr in Stück	abg. Ferkel je Sau / Jahr in Stück
1998	23,48	76,22	2,41	25,46	21,78
1999	24,04	74,69	2,33	25,19	21,73
2000	28,6	78,3	2,33	23,41	20,07
2001	28,81	80,25	2,38	24,41	21,36
2002	24,1	77,97	2,36	24,35	21,44
2003	23,81	83,08	2,35	24,61	21,45
2004	20,9	85,81	2,45	26,3	22,56

Tab. 8: Entwicklung wichtiger Parameter biologischer Leistungen der Jungsauen des Bestandes im Sanierungszeitraum

Produktionsjahr	Umrauschrage in %	Abferkelrate in %	leb. geb. Ferkel je Wurf in Stück	abg. Ferkel je Wurf in Stück
1998	22,8	73,14	9,5	9,3
1999	32,35	62,16	10,1	9
2000	27,2	68,66	8,9	8,6
2001	16,67	71,59	9,9	8,8
2002	11,35	71,86	9,6	8,9
2003	6,78	81,21	10,1	9,2
2004	3,7	83,28	10,4	9,3

Auch durch eine intensive Einweisung des Betreuungspersonals wurde der kritischen Situation Rechnung getragen: Jeder vermeidbare Kontakt zu den Reagenten war zu unterlassen und die Stallluftqualität trotz und gerade wegen winterlicher Außentemperaturen verstärkt zu beachten. Nach der Umstallung der letzten Sau aus der Einzeltierboxen-Reihe wurde der Bereich gründlichst, zuerst wegen der Gefahr der Sekretverteilung im Stall trocken, dann nass gereinigt. Nach dem Abtrocknen wurde er mit Sorgene 5, einem DVG-gelisteten Desinfektionsmittel der Firma Ohlson, Geltorf-Esprehm auf der Basis von Peroxiden, desinfiziert. Es folgte ein mehrwöchiger Leerstand dieses gefährdeten Bereiches (biologische Ruhe).

Um eines der Risiken für den Erfolg des Versuches zu verringern, musste partiell und nur in dieser speziellen Tiergruppe von einer der ursprünglichen Prämissen abgewichen werden: Unter den gegebenen Umständen konnte hier auf immunprophylaktische und antiinfektive Maßnahmen nicht verzichtet werden. Mit Ausnahme der Sauen, die innerhalb der sich anschließenden 14 Tage zum Abferkeln kamen, erhielten die erkannten Keimträger am Tag ihrer Separation je 1 Dosis (2 ml) Porcilis® AR-T / Intervet (Bordetella bronchiseptica, inaktiviert und dermonekrotisches Pasteurella multocida [Typ D]-Toxoid). Außerdem wurden ihnen 20 mg pro kg Lebendmasse Oxytetracyclin (Cuxacyclin® 20 % / LAH) und so, angepasst an ihre jeweils geschätzte Körpermasse, ca. 20 ml des Präparates i.m. appliziert. Um einen antibakteriell wirksamen Gewebespiegel der Wirkstoffgruppe ausreichend lange aufrecht zu erhalten, wurden ihnen darüber hinaus 10 Tage lang jeweils 1x täglich 50 g Chlortetracyclin 100 / bela-pharm per os mit dem Futter verabreicht. Zum Erreichen einer möglichst schnellen immunologischen Abwehr der Pmt erfolgte die 2. Impfung der Grundimmunisierung mit Porcilis® AR-T abweichend von der Empfehlung des Herstellers (6 Wochen) bereits 4 Wochen später.

Jeweils 3 Wochen vor dem berechneten Geburtstermin wurden die separierten Sauen ein weiteres Mal mit Cuxacyclin® 20 % in obiger Dosierung parenteral behandelt und erhielten ca. 14 Tage ante partum zur Boosterung eine 3. Impfung mit Pocilis® AR-T (mit Ausnahme der Tiere, deren Geburt innerhalb von 4 Wochen nach der 2. Grundimmunisierung zu erwarten war). Neben der weiteren Eindämmung der Keimübertragung sollten die Sauen einen möglichst hohen maternalen Antikörperspiegel lactogen an die Ferkel übertragen und diese so zusätzlich vor der Infektion durch die Mütter schützen. Mit dem Frühabsetzen der Ferkel am 21. Lebenstag verringerte sich die Gefahr vertikaler Infektionen zusätzlich. Die Nachkommen der Reagenten wurden ausnahmslos von der Zucht ausgeschlossen und verließen die Anlage als Mastläufer.

Die Geburten der Reagenten erfolgten in einem separaten Abferkelabteil (3.1.2; 9.9, Abb. 17). Das musste in dieser Phase kontinuierlich beschickt werden, bot aber die geringste Gefahr des Kontaktes zu den nicht infizierten Tieren. Die Merzung (Schlachtung) der Reagenten erfolgte unmittelbar am Ende der Laktation. Nach dem Ende der Säugephase der letzten nachweislich infizierten Sau wurde auch dieses Abteil komplett geräumt. Es wurde intensiv gereinigt und mit Sorgene 5 desinfiziert. Der Leerstand musste auf etwa 2 Wochen beschränkt bleiben.

Wegen fehlender überzähliger Stallkapazitäten und separater Flatdeckabteile war es unvermeidbar, die Ferkel der Keimträger jeweils mit den gleichaltrigen Nachkommen der übrigen Sauen in gemeinsame Abteile abzusetzen. Dabei wurde jedoch strikt darauf geachtet, diese Ferkel in die diagonal gelegenen Boxen der Abteile und damit so weit wie möglich von den zur Zucht vorgesehenen Ferkeln entfernt zu platzieren (3.1.2; 9.9, Abb. 17, **X** und **X**).

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Phase I - Statuserhebung

Bei der am 02. September 1998 gemeinsam von den Betriebsverantwortlichen, dem Betreuungstierarzt und dem SGD durchgeführten klinischen Bestandsuntersuchung wurden in keiner der einbezogenen Tiergruppen (produktive Herde, Jungsauen, Flatdeck-Läufer, Zuchtläufer und selektierte, unverkäufliche Mastläufer) die typischen, eindeutig der PRA zuzuordnenden klinischen Symptome, wie laterale oder dorsale Deformationen von Nasen und Oberkiefern oder Epistaxis, beobachtet. Dagegen aber waren weniger spezifische Erscheinungen, wie Sekretbahnen in den medialen Augenwinkeln, dorsale, uni- oder bilaterale Auftreibungen der Nasen bzw. der Oberkiefer, scheinbare oder tatsächliche Verkürzungen der Nasen (Brachygnathia superior) und konkave Ausprägungen der Ossa frontales und nasales (sogenannte „Sattelung“ der Nasen) bei einzelnen Stamm- und Jungsauen zu erkennen, die der genetischen Konstruktion der Tiere zugeschrieben wurden.

Bei einer der 8 Sauen, die aufgrund solcher verdächtiger Symptome durch Nasentupferproben und die anschließende bakteriologische Analyse (3.1.4) näher kontrolliert wurden, gelang der Nachweis toxinogener *Pasteurella multocida* (Tab. 9).

Die bakteriologischen Untersuchungen der 10 an diesem Tag beprobten Läufer verliefen mit negativem Ergebnis (Tab. 10).

Als in der Zeit vom 09. Oktober 1998 bis zum 11. März 1999 im Serum von 9 der getesteten 174 Sauen (= 5,2 %) auch Antitoxine gegen Pmt registriert werden mussten (Tab. 9), galt die Anwesenheit der Erreger in der Zuchtherde als sicher. Auch hier erfolgte kein Nachweis von Antitoxinen im Serum der untersuchten Läufer (Tab. 10).

Bei der sich anschließenden Gesamtbestandsuntersuchung der produktiven Stammsauen vom 14. April bis zum 20. Mai 1999 wurden der Anteil nachweisbarer Keimträger durch die bakteriologische Untersuchung mit 7,7 % und der Anteil der Antitoxin- und damit ebenfalls potenziell möglichen Keimträger mit 4,8 % bestimmt (Tab. 9).

Insgesamt wurden in dieser 1. Phase des Versuches 477 Sauen zu 6 Beprobungsterminen parallel sowohl serologisch, als auch bakteriologisch kontrolliert. Das waren durchschnittlich 80 (mindestens 37, maximal 187) Tiere pro Termin. Dabei wurden 23 Tiere aus 5 Beprobungsterminen mit Antitoxinen und 39 Tiere aus 4 Terminen als Keimträger ermittelt. In nur 3 Beprobungsreihen (50 %) wurden sowohl serologische (19 Sauen), als auch bakteriologische (37 Sauen) Reagenten registriert. Nur bei 2 Tieren gelang es, sowohl Antitoxine gegen Pmt, als auch die Erreger selbst nachzuweisen. Schlussfolgernd aus diesen Resultaten wurde der Anteil der (nachweisbaren und potenziellen) Pmt-Träger in der produktiven Zuchtherde mit weniger als 15 % geschätzt. Damit schien der Versuch einer Sanierung durch die Selektion der Reagenten und die Tilgung des durch sie gebildeten Erregerreservoirs wirtschaftlich verantwortbar.

3 Eigene Untersuchungen

Tab. 9: Anzahl untersuchter Sauen, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase I

	Serologische Untersuchungen			Bakteriologische Untersuchungen		
Zeiträume der Untersuchungen	Anzahl untersuchter Sauen	Anzahl von Sauen mit Antitoxin	Anteil von Sauen mit Antitoxin in %	Anzahl untersuchter Sauen	Anzahl ermittelter Keimträgern	Anteil ermittelter Keimträgern in %
02.09.1998	-	-	-	8	1	12,5
09.10.1998 bis 11.03.1999	174	9	5,2	-	-	-
14.04.1999 bis 20.05.1999	483	23	4,8	506	39	7,7

Tab. 10: Anzahl untersuchter Läufer, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase I

	Serologische Untersuchungen			Bakteriologische Untersuchungen		
Zeiträume der Untersuchungen	Anzahl untersuchter Läufer	Anzahl von Läufern mit Antitoxin	Anteil von Läufern mit Antitoxin in %	Anzahl untersuchter Läufer	Anzahl ermittelter Keimträgern	Anteil ermittelter Keimträgern in %
02.09.1998	-	-	-	10	0	-
09.10.1998 bis 20.05.1999	15	0	-	-	-	-

3.2.2 Phase II - Gruppenweise Untersuchungen im ELISA

Nach wie vor fanden sich keine eindeutigen klinischen Symptome der PRa in der produktiven Herde und ihrer Nachzucht. Auch die eingangs beobachteten unspezifischen Erscheinungen (3.2.1), die anfängliche Stadien oder milde verlaufende Formen der Erkrankung nicht sicher ausschließen ließen, zeigten eine eher rückläufige Tendenz.

Die in der 2. Phase des Versuches ermittelten serologischen und bakteriologischen Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen 11 und 12 sowie in den Abbildungen 11 und 12 zusammengestellt. Zum Zweck der Vergleichbarkeit der Anteile an Reagenten in den beiden Produktionsstufen Sauen / Eber / Jungsauen (= erwachsene Zuchttiere) und Läufer (= Nachzucht) erfolgte die Zuordnung jeweils für gleiche Zeiträume.

Über den Gesamtzeitraum reduzierte sich der Anteil von Antitoxinträgern unter den erwachsenen Zuchttieren von 4,2 % auf 0,2 % aller untersuchten Schweine (Tab. 11). Dabei wurde der letzte Reagent mit positivem serologischen Untersuchungsergebnis bereits am 21. März 2000, etwa 4 Wochen nach der Anlass bezogenen Teilbestandsuntersuchung vom 24. Februar im Wartestall (Atemwegserkrankungen, siehe 3.1.3), registriert. Allerdings ist zu vermerken, dass seit dem Juni 2000 die Anzahl der untersuchten Tiere und Serumproben drastisch reduziert wurde. Die weiteren serologischen Kontrollen beschränkten sich auf Stichproben, da zu diesem Zeitpunkt schon mehr als 2 Monate keine Antitoxine mehr nachgewiesen wurden (Abb. 11). Wiederum fanden sich in den Seren der 237 getesteten Läufer in keinem Fall Antitoxine (Tab.12).

Auch der Anteil von Sauen, Ebern und Jungsauen mit Nachweisen der Pmt (Nasentupferproben, aerobe Kultur, Toxinnachweis im ELISA, siehe 3.1.4) verringerte sich in dieser Phase, vor allem seit der Jahreswende 1999 / 2000 von 3,4 % auf 0,7 % der in ihren Produktionsgruppen beprobten Tiere letztlich deutlich (Tab. 11). Anlass für die Teilbestandsuntersuchung am 24. Februar 2000 war der Ausbruch mild verlaufender Atemwegserkrankungen im Wartebereich (Abb. 11, 12). Darin zeigte sich eine noch immer hohe Konzentration nachweislicher Keimträger von 6,2 % unter den zu diesem Zeitpunkt in der Stalleinheit eingestellten Sauen. Dem gegenüber konnten die weiteren gruppenweisen Kontrollen (3.1.3) nur das vormals bereits erreichte niedrige Nachweisniveau bestätigen. Eine Ausnahme bildete der positive bakteriologische Befund bei 2 Sauen gleichzeitig (= 10,5 %) am 13. April 2000 aus einer relativ kleinen Stichprobe von nur 19 Tieren.

In der gesamten 2. Phase des Sanierungsversuches wurden insgesamt 1869 erwachsene Zuchttiere zu 69 Beprobungsterminen parallel sowohl serologisch, als auch bakteriologisch kontrolliert. Das waren durchschnittlich 27 (mindestens 2, maximal 275) Tiere pro Termin. Dabei wurden 35 Tiere aus 17 Beprobungsterminen mit Antitoxinen und 48 Tiere aus 14 Terminen als Keimträger ermittelt. In nur 7 Beprobungsserien (10,1 %) wurden sowohl serologische (18 Sauen), als auch bakteriologische (23 Sauen) Reagenten registriert. Aus diesen gelang es wiederum nur bei 3 Tieren, zeitgleich sowohl Antitoxine gegen Pmt, als auch die Erreger selbst nachzuweisen. Die Anteile positiver Befunde variierten innerhalb der einzelnen Beprobungsgruppen zwischen 0 und 12,5 % serologischer bzw. zwischen 0 und 33,3 % bakteriologischer Nachweise.

3 Eigene Untersuchungen

Tab. 11: Anzahl untersuchter Sauen, Jungsauen und Eber, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase II

Zeiträume der Untersuchungen	Serologische Untersuchungen			Bakteriologische Untersuchungen		
	Anzahl untersuchter Sauen / Eber	Anzahl von Tieren mit Antitoxin	Anteil von Tieren mit Antitoxin in %	Anzahl untersuchter Sauen / Eber	Anzahl von Keimträgern	Anteil von Keimträgern in %
26.05.1999 bis 18.11.1999	618	26	4,2	619	21	3,4
25.11.1999	254	4	1,6	254	6	2,4
02.12.1999 bis 17.02.2000	267	4	1,5	300	3	1,0
24.02.2000	275	0	-	275	17	6,2
02.03.2000 bis 12.10.2000	473	1	0,2	823	6	0,7

Tab. 12: Anzahl untersuchter Läufer, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase II

Zeiträume der Untersuchungen	Serologische Untersuchungen			Bakteriologische Untersuchungen		
	Anzahl untersuchter Läufer	Anzahl von Läufern mit Antitoxin	Anteil von Läufern mit Antitoxin in %	Anzahl untersuchter Läufer	Anzahl von Keimträgern	Anteil von Keimträgern in %
26.05.1999 bis 25.11.1999	137	0	-	247	5	2,0
02.12.1999 bis 24.02.2000	12	0	-	195	1	0,5
02.03.2000 bis 12.10.2000	88	0	-	499	16	3,2

3 Eigene Untersuchungen

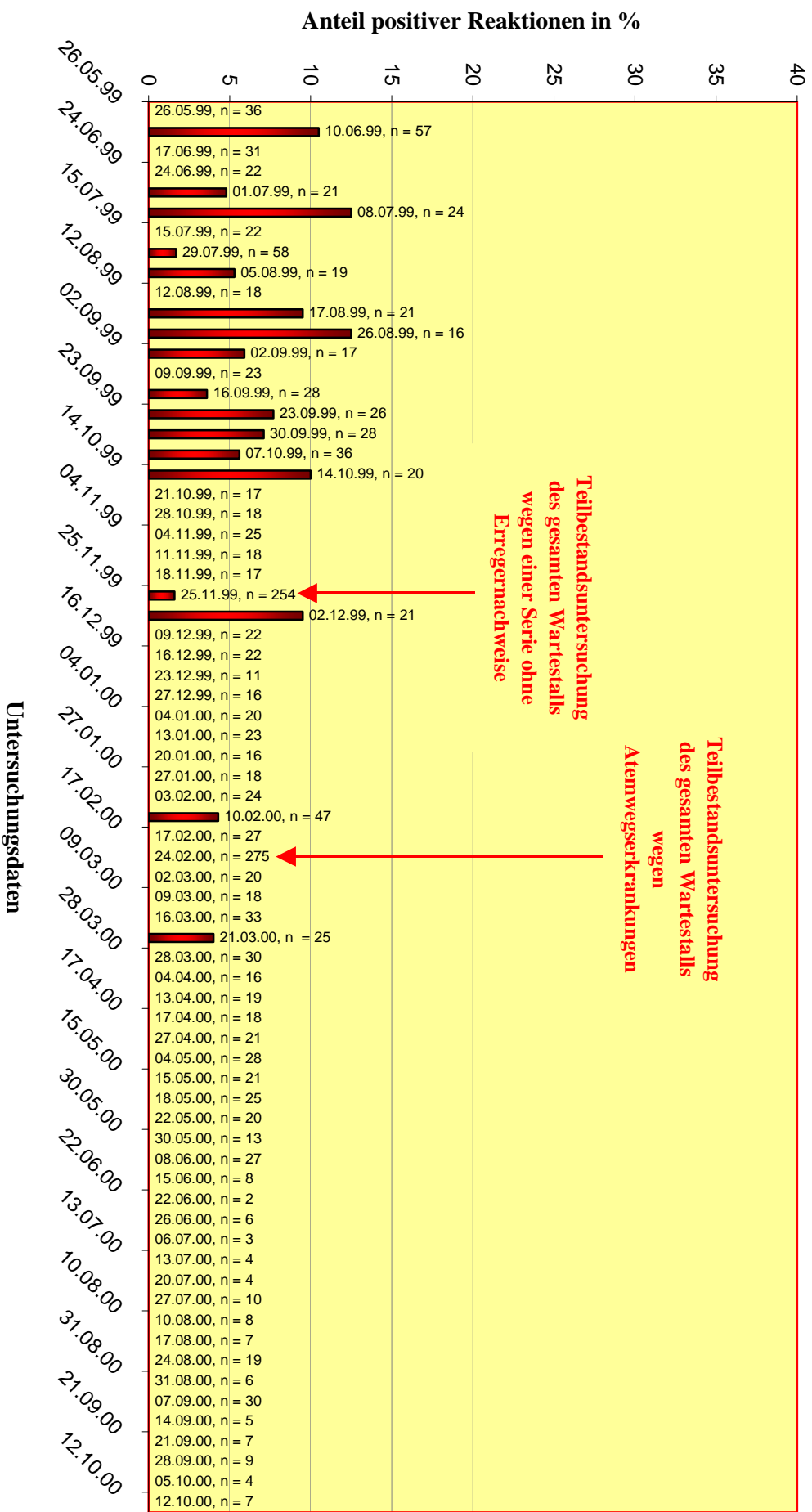


Abb. 11: Serologische Untersuchungen von Sauen, Ebern und Jungsauen in der Phase II

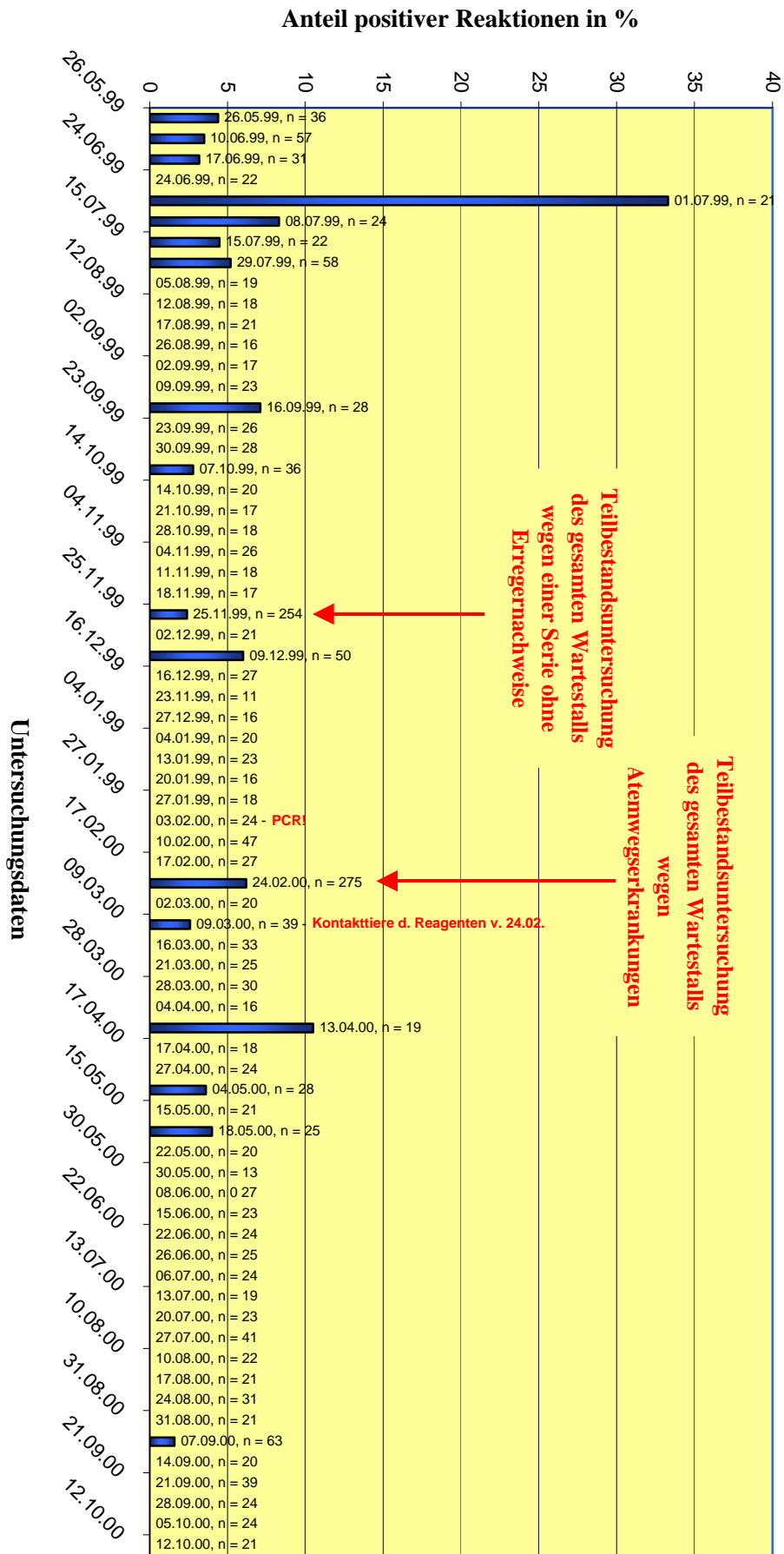


Abb. 12: Bakteriologische Untersuchungen von Sauen, Ebern und Jungsaugen in der Phase II

Vom 02. März bis zum 18. Mai 2000 wurden 5 von 298 beprobten Sauen (= 1,7 %) bakteriologisch als Erregerträger erkannt. In der Zeit vom 22. Mai bis zum 31. August 2000, also über mehr als 3 Monate, wurden aus den Nasentupfern der in dieser Periode untersuchten 334 Sauen keine Pmt mehr isoliert. Dieses Resultat und die vorliegenden serologischen Ergebnisse ließen darauf hoffen, dem angestrebten Sanierungsziel entscheidend näher gekommen zu sein. Kurz darauf aber musste erneut, nach einer Kontrolle von 63 Tieren am 07. September 2000, 1 Sau infolge des bakteriologischen Erregernachweises aus dem Bestand ausscheiden.

Die für die erwachsenen Zuchttiere registrierte schrittweise Reduzierung des Anteils der mit der angewandten Verfahrensweise identifizierten Keimträger, wurde unter den beprobten Läufern nicht beobachtet (Tab. 12). Bemerkenswert aber war, dass von den 16, in der mittleren Jahreshälfte 2000 erkannten Reagenten (= 3,2 %), allein am 13. April 2000 bei 12 Tieren aus einer Beprobungsgruppe von 48 Läufern (= 25 %) die Infektion festgestellt werden musste (siehe auch erwachsene Zuchttiere, S. 71, vorletzter Absatz). Diese gehäufte Findungsrate im Aufzuchtbereich trat damit etwa 7 Wochen nach den Atemwegserkrankungen in der Sauenherde, der Teilbestandsuntersuchung im Wartebereich vom 24. Februar und ihrem überraschenden Ergebnis auf.

Die jüngsten positiven bakteriologischen Befunde dieser Periode unter den Läufern datierten vom 16. Juni bzw. 17. August 2000.

Aus diesen Ergebnissen wurde offensichtlich, dass das erklärte Sanierungsziel mit der bis dahin angewandten Methodik nicht erreicht worden war. Schlussfolgernd aus dieser Erkenntnis konnte in wirtschaftlicher Verantwortung alternativ nur zwischen einem Abbruch des Versuches oder einer Umgestaltung des Verfahrens durch eine Vervollkommnung der Probenentnahmen und die Einführung sensitiverer Untersuchungsmethoden entschieden werden.

3.2.3 Phase III - Gesamtbestandsweise Untersuchungen in der PCR

Die 3. Phase des Sanierungsversuchs beanspruchte etwa 7 Monate. Auch in diesem Zeitintervall wurden im Gesamtschweinebestand der Anlage keine klinischen Symptome beobachtet, die zweifelsfrei der Rhinitis atrophicans und ihrer progressiven Form zuzuordnen waren.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen unter den Sauen, Ebern und Jungsauen nach der Einführung der PCR-Methode, einschließlich der Nachuntersuchungen unmittelbarer Kontakttiere identifizierter Keimträger, sind in der Tabelle 13 zusammengestellt. Mit der ersten Gesamtbestandsuntersuchung vom 23. Oktober bis zum 14. Dezember 2000 wurde ersichtlich, dass noch immer mindestens 53 erwachsene Zuchttiere mit Pmt infiziert waren. Das entsprach einem Anteil von wiederum fast 8 % und unterschied sich nicht von der ermittelten relativen Häufigkeit bei der Bestandsuntersuchung in der Erhebungsphase (3.2.1, Tab. 9).

Im Folgenden verringerte sich der Anteil nachweislicher Keimträger, nicht zuletzt durch die konsequenten Nachkontrollen der unmittelbaren Kontakttiere vorher erkannter Reagenten am 03. und 11. Januar 2001, kontinuierlich und deutlich. Bei der Gesamtbestandsuntersuchung am 28. Februar und 01. März 2001 konnte erstmalig auch mit der neuen, wesentlich sensibleren Verfahrensweise ein vollständig bakteriologisch negatives Kontrollergebnis erzielt werden.

3 Eigene Untersuchungen

Tab. 13: Anzahl untersuchter Sauen, Jungsauen und Eber, Anzahl und Anteil mit der PCR-Methode identifizierter Keimträger in der Phase III

Zeiträume der Untersuchungen	Anzahl untersuchter Sauen, Jungsauen und Eber	Anzahl erkannter Keimträger	Anteil erkannter Keimträger in %
23.10.2000 bis 14.12. 2000	698	53	7,6
03.01.2001	152	10	6,6
11.01.2001	153	2	1,3
22.01.2001 bis 05.02.2001	621	2	0,3
28.02.2001 / 01.03.2001	549	0	-
28.05.2001 / 29.05.2001	559	0	-

Dieses bestätigte sich auch, als die Probenentnahmen zu den abschließenden Untersuchungen dieser Periode am 28. und 29. Mai 2001 durch den wirtschaftlich unabhängigen SGD durchgeführt wurden. Damit wurde diese 3. zur entscheidenden Phase des Sanierungsversuchs (Abb. 13).

Unter den bis zum 05. Februar 2001 erkannten Keimträgern waren auch eine Reihe tragender und teils hochtragender Sauen (Tab. 14). Die unmittelbare Entfernung dieser Tiere aus der Herde bzw. ihre Schlachtung war schon wegen ihrer Anzahl weder ethisch, noch wirtschaftlich zu verantworten.

Tab. 14: Beispiele für Trächtigkeitsstadien von Sauen, die bis zum 30. November 2000 als Erregerträger bekannt wurden (alle Belegungen im Jahr 2000)

Sau Nr.	Datum der Belegung	Trächtigkeitsstag	Sau Nr.	Datum der Belegung	Trächtigkeitsstag
2274	16.10.	45.	3187	09.10.	52.
3044	09.10.	52.	3190	09.10.	52.
2416	09.10.	52.	2243	09.10.	52.
2528	09.10.	52.	3158	02.10.	59.
2991	02.10.	59.	3109	02.10.	59.
3185	02.10.	59.	2731	25.09.	66.
3164	25.09.	66.	3166	25.09.	66.
3023	25.09.	66.	2881	25.09.	66.
3012	25.09.	66.	3152	18.09.	73.
2577	18.09.	73.	2428	18.09.	73.
2808	18.09.	73.	2532	18.09.	73.
3126	18.09.	73.	2951	14.08.	108.
2241	18.09.	108.			

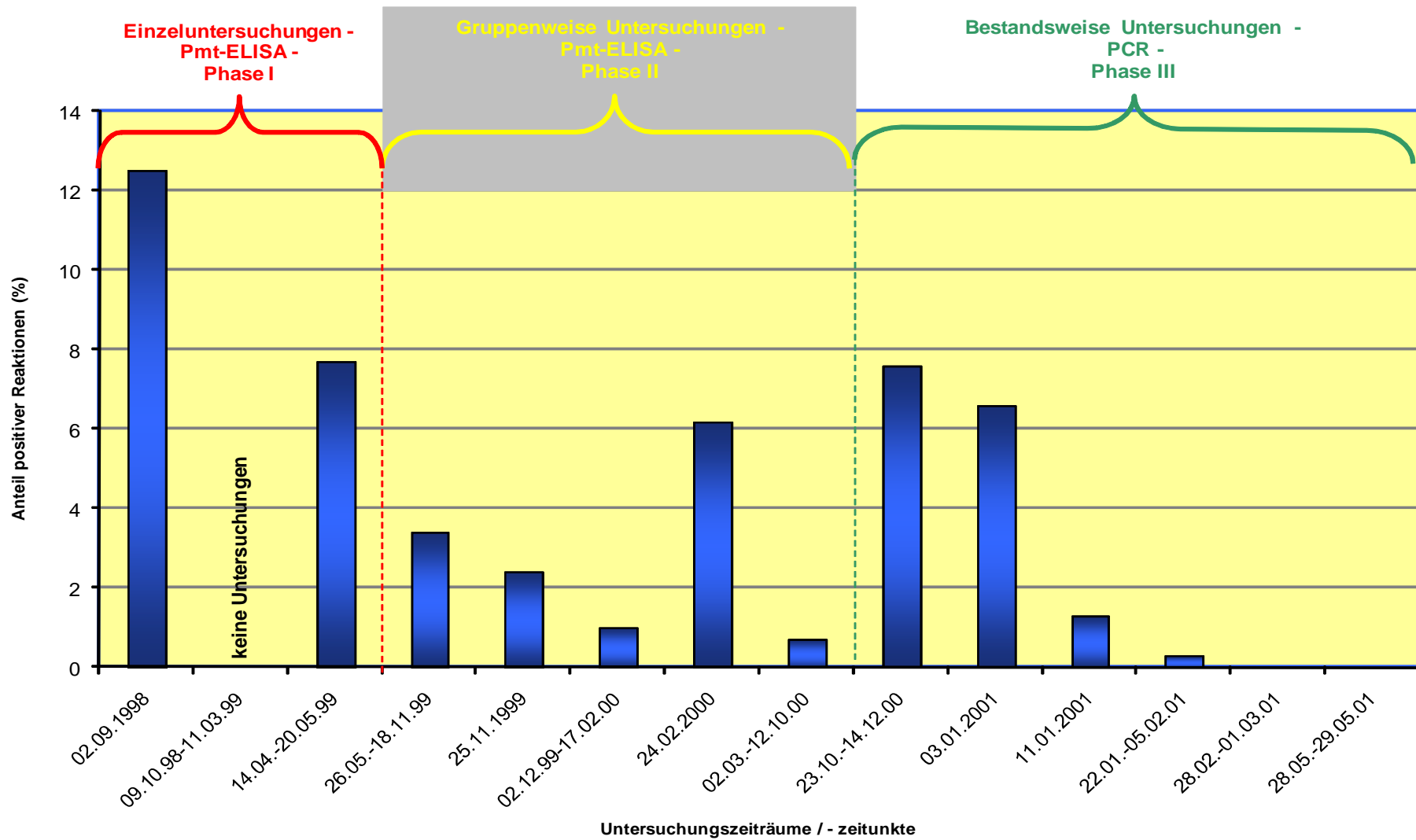


Abb. 13: Bakteriologische Untersuchungen von Sauen, Ebern und Jungsauen in den Phasen I bis III

3 Eigene Untersuchungen

Allein bis zum 30. November 2000 hätte die Fortsetzung der vorher praktizierten sofortigen Selektion aller Reagenten den Ausfall einer kompletten Wochengruppe von Abferkelungen und damit immense ökonomische Schäden zur Folge gehabt. Deshalb wurden die tragenden, als Pmt infiziert erkannten Sauen, wie unter dem Punkt 3.1.5 beschrieben, isoliert und dem dort aufgezeigten Verfahren unterzogen.

Die am 03. Januar 2000 als Keimträger erkannten 10 Sauen (Tab. 13) wurden am 08. Januar, direkt nach dem Vorliegen der Resultate, erneut beprobt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu testen. Die Rachentupferprobenentnahmen stellten eine arbeitsorganisatorische Belastung dar und verzögerten das Verfahren insgesamt, sowohl im Stall, als auch im Labor. Die separate Untersuchung von Nasen- und Rachentupfern in der PCR sollte die Frage nach der Rechtfertigung dieses erhöhten Aufwandes beantworten. Außerdem wurde ein Vergleich der Analyseergebnisse der PCR-Methode mit denen der aeroben Kultur und dem anschließenden Toxinnachweis im Pmt-ELISA angestrebt. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 15 ausgeführt.

Tab. 15: Vergleich der Nachweishäufigkeiten von Pmt aus Nasen- und Rachentupferproben mit der PCR-Methode und im Pmt-ELISA

Sau Nr.	PCR im Pool am 03.01.2000	PCR am 08.01.2000		ELISA am 08.01.2000	
		N / R* getrennt	Bewertung	N / R getrennt	Bewertung
2952	positiv	N: negativ	positiv	N: negativ	negativ
		R: positiv		R: negativ	
3209	positiv	N: positiv	positiv	N: negativ	negativ
		R: negativ		R: negativ	
3222	positiv	N: negativ	negativ	N: negativ	negativ
		R: negativ		R: negativ	
2923	positiv	N: negativ	negativ	N: negativ	negativ
		R: negativ		R: negativ	
3203	positiv	N: negativ	negativ	N: negativ	negativ
		R: negativ		R: negativ	
3188	positiv	N: positiv	positiv	N: negativ	negativ
		R: positiv		R: negativ	
3176	positiv	N: negativ	negativ	N: negativ	negativ
		R: negativ		R: negativ	
3197	positiv	N: positiv	positiv	N: negativ	negativ
		R: positiv		R: negativ	
3012	positiv	N: negativ	positiv	N: negativ	negativ
		R: positiv		R: negativ	
3028	positiv	N: positiv	positiv	N: negativ	negativ
		R: positiv		R: negativ	

*) N = Nase, R = Rachen

3 Eigene Untersuchungen

Während der Pmt-ELISA die vorherigen Untersuchungsergebnisse in nicht einem Fall bestätigen konnte, ließen sich die positiven bakteriologischen Befunde durch die Untersuchung der gewonnenen Tupferproben in der PCR für 6 Sauen (= 60 % der Fälle) reproduzieren. Dabei gründete sich der Erregernachweis bei 2 Tieren allein auf einem positiven Befund aus der Analyse der Rachentupfer und bei 1 Jungsau allein aus der Untersuchung der Nasentupferprobe. Bei 3 Tieren reagierte das diagnostische System in der Wiederholungsuntersuchung sowohl für die Nasen- als auch für die Rachentupferprobe positiv.

Die Ergebnisse der Untersuchungen unter den Zuchtläufern in der Phase III sind in der Tabelle 16 zusammengestellt. Nur in 2 der 576 in diesem Zeitraum mit der PCR-Methode durchgeführten Analysen der Nasen- und Rachentupferproben von Läufern war ein positiver Untersuchungsbefund zu verzeichnen (23. Januar 2001).

Tab. 16: Anzahl untersuchter Läufer (70 bis 160 Lebenstage alt), Anzahl und Anteil mit der PCR-Methode identifizierter Keimträger in der Phase III

Zeiträume der Untersuchungen	Anzahl untersuchter Läufer	Anzahl erkannter Keimträger	Anteil erkannter Keimträger in %
23.10.2000 bis 14.12. 2000	156	0	-
03.01.2001	0	0	-
11.01.2001	0	0	-
22.01.2001 bis 05.02.2001	146	2	1,4
28.02.2001 / 01.03.2001	128	0	-
28.05.2001 / 29.05.2001	146	0	-

Die beiden nachfolgenden Gesamtbestandsuntersuchungen aber verliefen auch in diesem Bereich mit einem negativen Ergebnis, so dass sich auch mit den empfindlichsten zur Verfügung stehenden Methoden keine Erregerträger mehr im Reproduktionsbereich der Herde nachweisen ließen.

3.2.4 Phase IV - Kontrolle und Überwachung

Bei den unter 3.1.3 beschriebenen quartalsweisen klinischen, bakteriologischen und serologischen Untersuchungen zur Kontrolle des Sanierungserfolges und zur Überwachung des Bestandes wurden zwischen dem 29. Mai 2001 und dem 10. Februar 2002 weder klinisch (2 Bestandsuntersuchungen durch den SGD), noch serologisch (90 Untersuchungen bei 3 Beprobungsterminen), noch bakteriologisch (77 Sauen, Eber und Jungsauen, 22 Zuchtläufer bei 2 Beprobungsterminen) positive Befunde erhoben.

Dann plötzlich, nach dem Bestandsbesuch durch den SGD am 11. Februar 2002, der wiederum keine Hinweise auf das Vorliegen klinischer Erkrankungen der PRa erbrachte, reagierte die PCR bei der Analyse der Nasen- und Rachentupfer von 14 aus 35 beprobten erwachsenen Zuchttieren (= 40 %) und von 7 aus 16 Zuchtläufern (= 43,8 %) mit einem positiven Resultat (Tab. 17). Allerdings waren die genannten Analysen von einer Mitarbeiterin der Untersuchungseinrichtung durchgeführt worden, die diese Aufgabe nur vertretungsweise übernommen hatte.

3 Eigene Untersuchungen

Tab. 17: Positive Untersuchungsbefunde und ihre Abklärung in der Phase IV

Daten	Bakteriologische Kontrollen					
	Sauen, Eber und Jungsauen			Zuchtläufer		
	Anzahl kontrollierter Tiere	Anzahl positiver Befunde	Anteil positiver Befunde in %	Anzahl kontrollierter Tiere	Anzahl positiver Befunde	Anteil positiver Befunde in %
11.02.2002	35	14	40,0	16	7	43,8
25.02.2002	39	1	2,6	10	0	-
07.03.2002	10	0	-	-	-	-
04.09.2002	37	1	2,7	14	0	-
12.09.2002	16	0	-	-	-	-

Wegen der besonderen Umstände seines Zustandekommens musste dieses überraschende Ergebnis bei sachlicher Betrachtung angezweifelt werden und verlangte nach einer kritischen Plausibilitätsprüfung. Es warf Fragen nach der Zuverlässigkeit des diagnostischen Systems bzw. seiner Handhabung auf. Ein Anlass zur Skepsis bot u. a. der Umstand, dass der Anteil der Keimträger unter den Läufern plötzlich mehr als 40 % betragen sollte. Dagegen war im gesamten Zeitraum (7 Monate) der Phase III (vom 23. Oktober 2000 bis zum 29. Mai 2001), zu einer Zeit, als der Anteil Pmt infizierter Tiere unter den erwachsenen Zuchtschweinen, in mehreren Bestandsuntersuchungen schlüssig ermittelt, noch etwa 1 - 7 % betrug, in nur 2 von 576 Untersuchungen (= 0,3 %) ein Erregernachweis erfolgt.

Zur Aufklärung des Sachverhaltes wurden am 25. Februar 2002 47 unmittelbare Kontakttiere (= Boxengefährten, 39 Sauen und Jungsauen - einschließlich 2 Reagenten selbst, 10 Zuchtläufer) der Reagenten vom 11. Februar (Tab. 17) nach Nasentupferprobenentnahmen erneuten bakteriologischen Untersuchungen unterzogen.

Bei dem großen Anteil jetzt scheinbar wieder vorhandener Keimträger und der daraus abzuleitenden starken Ausbreitungstendenz akuter Infektionen im Bestand, war der Schluss gerechtfertigt, dass der Nachweis der Pmt beim zu erwartenden hohen Infektionsdruck zumindest bei Einzeltieren auch mit einer weniger sensitiven Methode möglich sein müsste. Diese Annahme, nicht mehr sicher auszuschließende falsch positive Reaktionen in der PCR-Methode und die wirtschaftliche Unbefangenheit staatlicher Untersuchungseinrichtungen waren maßgeblich für die Entscheidung, die Abklärungsuntersuchungen der Kontakttiere parallel am Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommerns (LVL M-V) und im Labor für Tiergesundheit der Landwirtschaftskammer Weser-Ems in Oldenburg (ein Labor mit langjähriger Erfahrung auf dem Gebiet des Pmt-Nachweises!) jeweils durch die aerobe Kultur mit anschließendem Toxintest im Pmt-ELISA durchführen zu lassen.

Während am LVL M-V in Rostock keine Keimträger unter den Kontakttieren ermittelt wurden, musste die Probe eines der 49 Tiere, einer Jungsau nach dem ersten Belegen (Tier-Nr. 3808), in Oldenburg wiederum als Pmt positiv beurteilt werden. Ohne eine abschließende Bewertung des Bestandsstatus vorzunehmen, wurden die 9 unmittelbaren Kontakttiere dieses vermeintlichen Keimträgers und die betroffene Jungsau selbst am 07. März 2002 ein drittes Mal mit Nasen- und Rachentupfern beprobt.

3 Eigene Untersuchungen

Zum Erreichen einer maximalen diagnostischen Sicherheit erfolgten jetzt die Analysen der gewonnenen Nasentupferproben sowohl an den beiden oben genannten Instituten im Pmt-ELISA, als auch im DNA-Labor Nord in Warnemünde mit der PCR-Methode. Hier wurden die Nasen- und Rachentupfer jeweils in getrennten Ansätzen behandelt. In allen 40 durchgeführten Untersuchungen (3x 10 Nasentupfer, 1x 10 Rachentupfer) war das Ergebnis negativ.

Daraufhin fiel die Entscheidung, den Bestand als verdächtig bzw. fraglich zu betrachten, seine Kontrollen aber nach dem unveränderten Schema weiter fortzusetzen. Das betroffene Tier (Nr. 3808), dessen Nasentupferprobe in Oldenburg zuletzt mit einem positiven Ergebnis untersucht worden war, wurde zunächst in der Herde belassen. Es schied jedoch im August 2002 wegen unzureichender Fruchtbarkeits- und Aufzuchtleistungen (7 lebend geborene, 1 tot geborenes Ferkel; 3 Ferkel zugesetzt, 5 verendet, 5 abgesetzte Ferkel) aus dem Bestand aus.

Die nächsten stichprobenweisen bakteriologischen (39 Sauen, 11 Zuchtläufer) und serologischen (30 erwachsene Zuchttiere) Überwachungsuntersuchungen am 29. Mai erbrachten ein komplett negatives Ergebnis. 3 Monate später jedoch, am 04. September 2002, reagierten die Proben eines jungen (ca. 7 Monate alten), im eigenen Bestand nachgezogenen Ebers positiv.

Der Eber selbst wurde umgehend der Schlachtung zugeführt und die Abklärungsuntersuchung in seiner vormaligen Umgebung am 12. September 2002 eingeleitet. Dazu wurden 15 Sauen und Jungsauen, die in den zurückliegenden Wochen im Belegstall nachweislich während der Brunststimulation einen direkten (Rüssel-)Kontakt zu diesem Eber hatten und ein zweiter, älterer Eber des Bestandes, der seinerseits die Sauen in dieser Zeit kontaktiert hatte, in die Abklärungen einbezogen. Die parallel mit dem ELISA (nur Nasentupfer) am LVL M-V in Rostock und der PCR (Nasen- und Rachentupfer) realisierten Analysen endeten alle ohne einen Toxin- oder Genomnachweis von Pmt.

Obwohl im Folgenden auch die serologischen Kontrollen vom 05. September und 05. Dezember 2002 (je 30 Sauen, Eber, Jungsauen und Zuchtläufer [70 - 160 Lebenstage alt]) und die stichprobenweisen bakteriologischen Untersuchungen vom 04. Dezember 2002 (42 erwachsene Zuchttiere, 9 Läufer [70 - 160 Lebenstage alt] unter Anwendung der PCR) mit negativen Ergebnissen keine Hinweise auf die weitere Anwesenheit der Pmt im Bestand oder eine Reinfektion erkennen ließen, wurde in Anbetracht der geschilderten Situation im Frühjahr des Jahres 2003 eine nochmalige bakteriologische Gesamtbestandsuntersuchung zur zuverlässigen Bestimmung des Herdenstatus für notwendig erachtet und durchgeführt.

Die Probenentnahmen, die alle Zuchttiere des Bestandes ab einem Alter von ca. 10 Wochen und einer Lebendmasse von etwa 30 kg einschlossen, erfolgten am 11. und 12. März 2003. Die labordiagnostischen Auswertungen der Nasen- und Rachentupferproben von 595 Sauen, Ebern und Jungsauen und 80 Zuchtläufern führten in keinem der Fälle zu einem Erreger(Genom-)nachweis von Pmt. Da auch in den parallel durchgeführten stichprobenweisen serologischen Untersuchungen (30 erwachsene Zuchttiere) keine Antitoxine auffindbar waren, konnten damit die negativen Ergebnisse der Abklärungsuntersuchungen aus dem Februar / März und September des Vorjahres bestätigt und die Abwesenheit von Pmt im Bestand als hochwahrscheinlich angenommen werden.

Schlussfolgernd daraus attestierte der SGD am 09. April 2003, 2 Jahre nach der zweiten, erstmalig mit einem komplett negativen Ergebnis abgeschlossenen bakteriologischen Gesamtbestandsuntersuchung,

3 Eigene Untersuchungen

dem Betrieb die PRa-Unverträglichkeit seines Schweinebestandes entsprechend dem PRa-Bekämpfungsprogramm (2.10.4, 9.5 - 9.8).

In den darauf folgenden serologischen (26. Juni, 02. und 29. Oktober 2003, 01. April und 21. Oktober 2004) und den bakteriologischen Überwachungskontrollen (02. Dezember 2003, 25. Mai und 15. Dezember 2004) mit der PCR, letztere auch auf den (im Juni bis August 2003) inzwischen aufgebauten Mastbestand ausgedehnt, tauchten keine positiven oder fraglichen Befunde mehr auf. Dabei wurden in der Untersuchung im Mai 2004 zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit nochmals Nasentupferproben von 13 Zucht- und 26 Mastschweinen zur parallelen Vergleichsanalyse mit dem Pmt-ELISA an das Labor für Tiergesundheit der LUFA Nord-West in Oldenburg eingesandt. Dieses Labor konnte die gewonnenen Resultate ebenfalls bestätigen.

Aus Anlass akuter Atemwegserkrankungen mit Husten, Schnupfen, serösem Nasenausfluss und verstärktem Tränenfluss im Mastbestand entnahm der SGD am 02. Oktober 2003 nochmals Nasentupferproben von 3 betroffenen Mastschweinen. Selbst aus diesen Tieren ließen sich weder mit dem Pmt-ELISA, noch mit der PCR-Methode toxinogene Stämme von *Pasteurella multocida* isolieren bzw. nachweisen.

So fehlte bis zum Dezember 2004 und fehlt bis jetzt jeder Hinweis auf eine weitere Anwesenheit von Pmt in der Zucht- oder in der Mastherde des Betriebes.

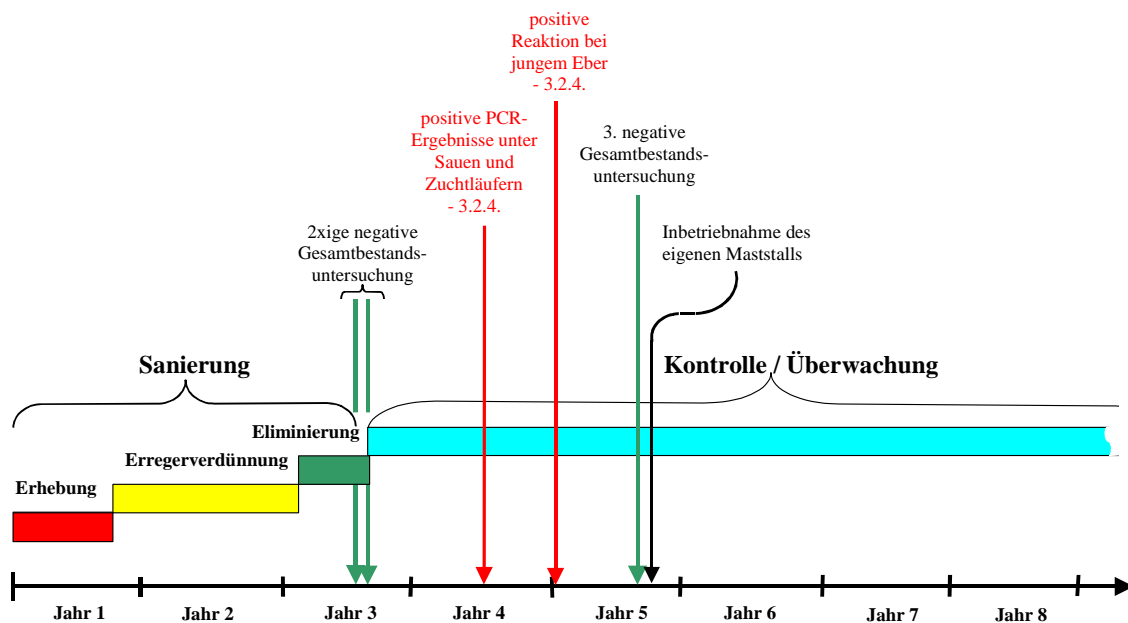


Abb. 14: Schematische Darstellung des Ablaufs und der Ergebnisse des Sanierungsversuches

4.1 Ausgangssituation im Versuchsbestand (Klinik und Infektionsstatus)

Vor der Bearbeitung einer tiergesundheitlichen Problematik (infektiöser Ätiologie) in einem Schweinebestand ist die zuverlässige Diagnosestellung zur (mikrobiellen) Statuserhebung unverzichtbar. Für die Progressive Rhinitis atrophicans oder die Gefahr der Weiterverbreitung ihres ätiologischen Agens bedeutet das den Nachweis oder den Ausschluss der Anwesenheit toxinogener Stämme von *Pasteurella multocida* (PEDERSEN et al. 1988). KAVANAGH (1994) allerdings warnt vor der alleinigen, absoluten und unkritischen Anwendung dieses Kriteriums. Der Verdacht der Anwesenheit der Pmt im vorgestellten Versuchsbestand resultierte aus klinischen Symptomen in gelieferten Mastläuferpartien. LIESCHKE et al. (1989) verweisen auf die Grenzen der klinischen und die Bedeutung der pathomorphologischen Diagnostik. Die praktische Umsetzung pathologischer Untersuchungen hielten sie selbst für schwierig. Bei der Vorbereitung und Durchführung des beschriebenen Versuchs musste auf diesen Zweig der Diagnostik verzichtet werden: Die Möglichkeiten aufwendiger radiologischer Verfahren standen nicht zur Verfügung und im Hinblick auf heutige technologische Bedingungen und den ökonomischen Druck für die Schlachtbetriebe waren derart verzögernde, kostenintensive Eingriffe in deren Produktionsprozesse nicht denkbar. Durch die Vermarktung der produzierten Mastläufer über den Tierhandel, oft in andere Bundesländer, konnte ihr Verbleib nicht rekapituliert werden. Eine Anwesenheit von Untersuchern bei der Schlachtung solcher Tiere war nicht zu organisieren.

BECHMANN u. SCHÖSS (1991) und MARTELLI et al. (1994) betonen die Unverzichtbarkeit der mikrobiologischen Diagnosestellung zur Beurteilung der Bestandssituation. So stellte diese einen der ersten wichtigen Schwerpunkte der Erhebungsphase des beschriebenen Versuchs dar. Mit dem Erregernachweis bei einer der gezielt durch Nasentupfer beprobten Sauen am 02. September 1998, dem Auffinden von Antikörpern im Serum von Sauen und der Bestimmung der bakteriologisch und serologisch ermittelbaren Prävalenz wurden Infektionen mit Pmt im Bestand als sicher betrachtet.

Wie im gesamten Beobachtungszeitraum wurden in der Zuchtherde auch schon bei Versuchsbeginn (und auch später im eigenen Mastbestand) keine klinischen Erscheinungen der PRa festgestellt, die sich zweifelsfrei auf die Wirkung der Pmt hätten zurückführen lassen. FÜLDNER u. HORSCH (1991) isolierten u. a. *Pasteurella multocida* (Pm) aus dem Atemtrakt gesunder Ferkel. BARTUSSEK et al. (2001) konnten auch unter bewusst ungünstig gestalteten Stallluft- und Umweltbedingungen trotz experimenteller Belastung mit einem toxinogenen Typ A-Stamm keine klinischen Symptome auslösen. HEER et al. (1995) begründeten das Fehlen des Krankheitsbildes trotz des Nachweises von Pmt in 2 beobachteten Mastbeständen mit dem guten Stallklima und der Hygiene. Auch LIESCHKE et al. (1989) berichten über signifikante Unterschiede für die klinische Ausprägung der PRa, wie sie hier zwischen dem Versuchsbestand (Sauenherde und eigene Jungsauenaufzucht) einerseits und den gelieferten Läufern andererseits bestanden. Bei JOLIE et al. (1990) zeigten Ferkel eines Wurfs mit 3 Wochen noch keine äußeren klinischen Erscheinungen, obwohl ihre Konchen schon vollständig atrophiert waren. Auch SEIFERT (1970) beschreibt Diskrepanzen zwischen den Frequenzen äußerlich sichtbarer klinischer Deformationen der Kopfknochen und röntgenologisch nachweisbarer Veränderungen der die Nasenhöhle begrenzenden knöchernen Strukturen. Wegen der fehlenden Möglichkeit pathologischer Untersuchungen und Erhebungen können hier keine Angaben zu eventuell vorliegenden pathomorphologischen Veränderungen und ihren Entwicklungen im Verlauf des Sanierungsversuchs veröffentlicht werden. Die im Abschnitt 3.1.2 dargestellten

Produktionsvoraussetzungen des Versuchsbestandes wie z. B. die Unterbringung in mehreren, von einander getrennten Stalleinheiten (auch die Aufzucht der Zuchtläufer in einem separaten Stall), die abteilweise Durchsetzung des Alles-rein-alles-raus-Prinzips im Abferkel- und Läuferaufzuchtbereich mit weitestgehend altersgetrennter Aufzucht bis zu einem Lebensalter der Läufer von ca. 10 - 12 Wochen, die Medikation der Absetzferkel in den ersten 2 Wochen nach dem Absetzen mit Amoxicillin und Colistin und der Verkauf des größten Teils der Läufer nach der Aufzuchtphase könnten das Auftreten typischer klinischer Symptome wie lateraler Nasen- und Oberkieferdeformationen verhindert haben. Als Ergebnisse seiner umfangreichen röntgenologischen Untersuchungen und populationsstatistischen Auswertungen wies SEIFERT (1970) hoch signifikante Einflüsse der eingesetzten Eber, der Sauen“familien“ und der Paarungskombinationen auf Quantität und Qualität röntgenologisch erfassbarer Veränderungen der Nasenknochen nach. Er postulierte das Zugrundeliegen verschiedener polyfaktoriell determinierter Genotypen mit mittlerer bis hoher Heritabilität für diese Merkmalsausprägung. So wären im vorliegenden Fall auch mangelnde genetische Dispositionen als Grund für das Fehlen typischer manifester klinischer Symptome denkbar. Bedingt dagegen spricht das Auftreten der Klinik bei den gelieferten Mastläufern.

Unter Berücksichtigung der Probleme der Diagnostik (2.9) und der gebotenen Vorsicht für die quantitative Wertung von Nachweisraten, vor allem mit den anfangs angewandten Verfahren, können auch die Umweltbedingungen der Tiere im Versuchsbestand für den vergleichsweise niedrigen Anteil an Reagenten verantwortlich sein: Der innerhalb von ca. 5 Wochen bei der ersten Gesamtbestandsuntersuchung der produktiven Sauen in der Erhebungsphase ermittelte Anteil von 4,8 % serologisch und 7,7 % bakteriologisch positiver Befunde ließ auf eine Erregerprävalenz von weniger als 15 % unter den erwachsenen Zuchtschweinen hoffen, die sich damit von vielen Angaben aus der Literatur (Beispiele von GOODWIN et al. [1990b] aus 5 Herden und MARTELLI et al. [1994], die sowohl unter Läufern als auch unter Sauen 40 - 50 % der untersuchten Tiere als Keimträger beschrieben) deutlich unterscheidet. Auch ELIAS et al. (1992) führten den unterschiedlichen Keimdruck von Pm in niederländischen und ungarischen Zuchtherden auf die unterschiedlichen Management-, Futter- und Vermarktungsbedingungen zurück, wobei ihr Untersuchungsumfang möglicherweise die Allgemeingültigkeit der getroffenen Aussage hinterfragen lässt. Ausgehend von den Schlussfolgerungen SEIFERTs (1970) könnte hypothetisch auch eine hereditäre Abhängigkeit der Empfänglichkeit von Einzelindividuen und Populationen für Pmt vorliegen. Dabei wäre im vorliegenden Fall für die meisten Einzeltiere des Bestandes und für diesen insgesamt schon vor dem Versuchsbeginn, genetisch determiniert, eine relativ geringe Empfänglichkeit anzunehmen. Da die hier diskutierten Möglichkeiten von direkter Bedeutung für die Kontrolle und Bekämpfung von Pmt-Infektionen und PRa sein könnten, sollten derartige gedankliche Hypothesen durch entsprechend zielgerichtete Untersuchungen bestätigt oder auch widerlegt werden.

4.2 Auswahl des Bekämpfungsweges

Spätestens beim Eintritt wirtschaftlicher Schäden durch die PRa oder bei nachgewiesener Anwesenheit von Pmt werden ihre gezielte diagnostische Überwachung und Bekämpfung zwingend erforderlich (DE JONG 2002). Die Möglichkeiten der Bekämpfung durch antiinfektive Behandlungen, Impfungen oder durch Eradikationsversuche sind von der Zielstellung und der ökonomischen Belastbarkeit der Betriebe abhängig (SCHIMMEL 1992b). Im vorliegenden Fall erwuchs die Notwendigkeit zur Bekämpfung der Pmt aus dem Auftreten der klinischen Symptome unter den gelieferten Läufern. Der weitere Kauf von Tieren, die während der Mast die Krankheitssymptome

ausprägen konnten, wurde durch den Tierhändler abgelehnt. Die von BLAHA (1993) geforderte Senkung des Antibiotikaeinsatzes und die durch diesen entstehende Kosten waren zu kalkulieren. Die Bezeichnung „Sanierung“ für medikamentöse Behandlungs- und immunprophylaktische Maßnahmen, wie sie von HEER et al. (1995) eingeleitet wurden, ist irreführend und bezieht sich allein auf die klinischen Erkrankungen. Die Absicht zur Inbetriebnahme einer neuen, eigenen Mastanlage bedingte im vorliegenden Fall das Streben nach einer dauerhaften Lösung des gesundheitlichen Problems und damit nach der Eliminierung der Erreger aus dem Zuchtbestand vor der Erstbelegung.

In der Vorbereitung des Eradikationsversuchs wurden mögliche Wege, ihre Voraussetzungen (3.1.2) und die Erfolgsaussichten, u. a. auch anhand der Auswahlkriterien (3.1.1) geprüft. Die Entscheidung für eine Sanierung des Schweinebestandes durch die Selektion potenzieller und nachgewiesener Keimträger wurde hier konkret wegen der günstigen Übereinstimmung von Erfordernissen und Gegebenheiten getroffen, um Einkommensausfälle und damit eine Unrentabilität des Betriebszweiges zu vermeiden und um das vorhandene Zuchtmaterial zu erhalten. Wie sich im Verlauf des Versuchs bestätigte, ist dieses Verfahren nur in Ausnahmefällen und nur für ausgewählte Zuchtbetriebe unter bestimmten Bedingungen (SCHNÜLL 2001) zu empfehlen. Ab einem Anteil von 20 - 25 % oder schon etwas weniger nachgewiesener Keimträger rät DE JONG (2002) zu einem Gesamtbestandsaustausch. Durch die Tilgung mehrerer Erreger gleichzeitig, den Zusammenhang von Tiergesundheit und Leistung und durch die Nutzung eines externen Zuchtfortschritts ist oft ein bemerkenswerter Leistungszuwachs zu erzielen. Die geschätzte Erregerprävalenz bei weniger als 15 % der Zuchttiere und die Abwesenheit klinischer Symptome als wichtige bzw. günstige Voraussetzungen für ein solches Projekt ließen hier im Versuch den Teilbestandsaustausch bei laufender Produktion als den wirtschaftlicheren Weg erscheinen.

4.3 Schwerpunkte der Diagnostik

In Anlehnung an die Arbeit von ALT et al. (1996) sollte die Identifizierung der Keimträger durch die Kombination bakteriologischer und serologischer Untersuchungen erfolgen. Die meisten, in der Literatur vorgefundenen Beispiele für derartige Versuche beziehen sich auf relativ kleine Zuchtherden mit weniger als 100 Stammsauen (DE JONG et al. 1994, ALT et al. 1996, SCHNÜLL 2001), in denen sowohl die Durchsetzung hygienischer und arbeitsorganisatorischer Maßnahmen, als auch die kurzfristige Beprobung des Gesamtbestandes lösbarer Aufgaben darstellen. Die hier bearbeitete Bestandsgröße von fast 500 Sauen forderte von allen Beteiligten deutlich höhere Anstrengungen, zumal während des gesamten Verfahrens ein positives wirtschaftliches Gesamtergebnis angestrebt werden musste.

Bedingungen und Probandenauswahl

Mehrere Autoren (FOGED et al. 1989, KOVÁCS u. MAGYAR 1996, DE JONG 2002) verweisen auf zunehmende diagnostische Schwierigkeiten unter antiinfektiven Behandlungen und Vakzinierungen, die Kolonisation, Vermehrung und Isolierbarkeit toxinogener *Pasteurella multocida*-Stämme reduzieren. Um die Sensitivität der eingesetzten Erregernachweisverfahren nicht zusätzlich einzuschränken, wurde hier von Beginn an auf gezielte Behandlungs- und Impfmaßnahmen verzichtet. Bei unumgänglichen, ausnahmsweisen Gruppen- oder Gesamtbestandsbehandlungen der Sauen, z. B. wegen zeitweise vermehrt auftretender Harnwegserkrankungen, wurde jeweils ein zeitlicher Abstand von mindestens 8 Wochen vom Ende der oralen Therapie bis zur nächsten diagnostischen Beprobung

eingehalten. Allein das Zeitintervall von der jeweiligen Medikation der Absetzferkel mit Amoxicillin (3.1.2) bis zur bakteriologischen Untersuchung der Zuchtläufer vor ihrer Umsetzung in den Zuchtläuferaufzucht-, Jungsaue- und Selektionsstall in der Phase II war auf 4 bis 6 Wochen reduziert. Das könnte möglicherweise die Befunderhebung in dieser Phase zu geringen Anteilen beeinflusst und das Scheitern der Sanierungsbemühungen bis dahin gefördert haben: Ganz vereinzelt könnten auch latent infizierte Zuchtläufer unbemerkt den Aufzuchtstall erreicht haben, wobei es hier nur phasenweise zu einer diagnostisch nachweislichen horizontalen Ausbreitung kam (3.2.2).

Dass die Pmt nach einer akuten Infektion nur für eine kurze Zeit, nicht immer und nicht immer in gleich hoher Konzentration reisolierbar sind, demonstrierten ELLING u. PEDERSEN (1985) in ihrer Arbeit. In der Phase II dieses Versuches variierten die Nachweise unter den Sauen innerhalb der einzelnen Beprobungsgruppen zwischen 0 und 33 %. Stresssituationen (NIELSEN u. FOGED 1992) und die Konzentration auf klinisch erkrankte Tiere (DE JONG 1993) können die Bedingungen zum Auffinden der Pmt verbessern. Das von VAN AKEN et al. (1992) dokumentierte signifikant niedrigere Geburtsgewicht für Ferkel, die später schwere Konchenatrophien ausprägen, führt im weiteren Leben dieser Tiere zu einer stets benachteiligten Versorgung und so zu einer erhöhten Krankheitsanfälligkeit. So spiegelt eigentlich der Umkehrschluss die tatsächlichen Beziehungen wahrscheinlicher wider: Das Risiko, sich mit Pmt zu infizieren und nachfolgend auch an der Ra zu erkranken, ist für untergewichtige, schwache und unterentwickelte Ferkel deutlich höher, als für Tiere mit mittleren oder überdurchschnittlichen Geburtsgewichten. BINDER et al. (1992) fanden bei Schweinen mit klinischen Symptomen der Enzootischen Pneumonie eine höhere Isolationsrate pathogener Atemwegserreger, u. a. von Pm, als in gesunden Kontrolltieren vor. Eine gezielte Probenentnahme bei schwächer entwickelten, an unterschiedlichen Erkrankungen leidenden Tieren und bei Schweinen mit weniger spezifischen, aber verdächtigen Erscheinungen, wie der „Sattelung“ von Nasen oder Sekretbahnen in den mittleren Augenwinkeln in der Phase I oder zu Zeiten auftretender Atemwegserkrankungen, teils mit Nasenausfluss und Tränenfluss in den Phasen II und IV, sollte auch im vorliegenden Versuch die bakteriologische Nachweisrate erhöhen und zahlte sich aus: Anders als bei MATSCHULLAT et al. (1994) oder GOODWIN et al. (1990a), denen der Erregernachweis selbst mit hohem Aufwand in manchen Herden nicht gelang, konnten die Pmt bei einer Sau bereits mit der ersten Probenentnahme zu Versuchsbeginn in einer relativ kleinen Stichprobe nachgewiesen werden. Mit den Anlass bezogenen, wegen Atemwegserkrankungen im Wartestall durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen am 24. Februar 2000 wurden wieder deutlich mehr infizierte Sauen als in den vorangegangenen gruppenweisen Beprobungen klinisch gesunder Tiere erkannt. In Letzteren hatte sich der Anteil aufgefundener Keimträger über längere Perioden weitgehend reduziert.

Methodenauswahl

Konventionelle Nachweismethoden der Toxinbildung, wie Tierversuche, die auch aus ethischen Gründen abgelehnt wurden (PENNING u. STORM 1984), und der Zellkulturtest, sind mit einem hohen labortechnischen Arbeitsaufwand verbunden und ließen sich in den zur Verfügung stehenden Untersuchungseinrichtungen nicht realisieren. Der Enzym-Linked-Immuno-sorbent-Assay (ELISA) ist eine ausreichend sichere Methode des Toxinnachweises zur Statuserhebung von Beständen (ERLER et al. 1993). Seine sensitive Überlegenheit gegenüber den Erstgenannten wurde schon in früheren Untersuchungen nachgewiesen (MATTSON u. SÖDERLIND 1990, MATTSON et al. 1992, ALT et al. 1993). Neben der hohen Standardisierung und Reproduzierbarkeit seiner Ergebnisse erlaubte er hier auch einen hohen Probendurchsatz zur Untersuchung größerer Tierzahlen für die gruppenweisen

Analysen. Das Vorliegen der Ergebnisse nach wenigen Tagen erleichterte die Selektion der Keimträger. Die Angaben zur Sensitivität des Pmt-ELISAs variieren: MATTSON u. SÖDERLIND (1990), MATTSON et al. (1992), ALT et al. (1993) und DE JONG (1993) verweisen auf die Möglichkeit des Toxinnachweises aus Mischkulturen. Sie sehen darin vor allem einen Vorteil bei einer starken Überwucherung oder bei Anwesenheit sowohl toxinogener als auch nicht toxinogener Pm in den gleichen Kulturen und belegen diesen mit konkreten Vergleichszahlen. So fanden HEER et al. (1995) bis zu 4 verschiedene Pm-Stämme in einem Tupfer. Von 271 untersuchten Sauen konnten DE JONG u. BRAAMSKAMP (1994) die Pmt in 26 Tieren durch die Standard(sub-)kultur nachweisen, während sie aus den primären Mischkulturen 51 positive Reaktionen im ELISA erhielten. Dagegen führen DE JONG et al. (1996) Beispiele für eine höhere Sensitivität nach vorausgegangener Subkultivierung verdächtiger Kolonien an. ACKERMANN et al. (1994) registrierten nur eine geringe Reduzierung der Koloniezahlen an Pm auf Selektivnährböden. Dennoch fiel im vorliegenden Versuch die Entscheidung für einen Verzicht auf zeitintensive, aufwendige Speziesdifferenzierungen und Subkulturen und für die Abschwemmung aus der primären Mischkultur vor allem wegen der potenziellen Gefahr des Verlustes des Toxinbildungsvermögens auf künstlichen Nährmedien (persönliche Mitteilung, Dr. Matthias Seelmann, Rostock, 2002). Eine Serotypisierung oder andere nähere Charakterisierungen für epizootiologische Studien waren ohne praktische Relevanz. Als Selektionskriterium allein maßgebend war hier der Toxinnachweis, auch ohne Speziesidentifikation, und damit die Fähigkeit kultivierter Pm, Toxine zu bilden oder nicht.

Die Verwendung ungeeigneter Hilfsmittel und eine Verzögerung von der Entnahme bis zur weiteren labordiagnostischen Bearbeitung des Probenmaterials können die Nachweisraten von Pmt spürbar reduzieren (CHANTER et al. 1989). Aus diesem Grunde wurden in diesem Versuch Dacron- bzw. Calcium-Alginat-Tupfer zur Probenentnahme und ein klares Amiesmedium für die Transportröhrchen gewählt. Auf hemmende Zusätze im Transportmedium, wie Aktivkohle, wurde bewusst verzichtet, um eine eventuelle Einschränkung des Toxinbildungsvermögens zu verhindern (persönliche Mitteilung, Dr. Matthias Seelmann, Rostock, 2002). Der Transport erfolgte jeweils ohne Verzögerungen und der Ausstrich der Proben auf den Selektivmedien in den Phasen I und II bzw. die primäre Probenaufbereitung für die Analyse mit der Polymerase-Kettenreaktion in den Phasen III und IV in aller Regel noch am gleichen Tag. Nur in wenigen Ausnahmefällen war eine gekühlte Lagerung bei 4 - 8 °C für etwa 16 Stunden bis zur weiteren Bearbeitung erforderlich.

4.4 Verteilung identifizierter Keimträger im Bestand

MARTELLI et al. (1994) registrierten einen hohen Anteil positiver Nasentupfer unter den Sauen im Abferkelstall und vermuteten die Belastungen des Puerperiums als Ursache. WALLGREN et al. (1994a) fanden die höchste Erregernachweisbarkeit in der Altersgruppe pubertierender bzw. junger erwachsener Zuchttiere zwischen 7 und 12 Monaten. Allerdings kamen diese Ergebnisse auch dadurch zustande, dass die erwachsenen Tiere jeweils 3-mal, die Jungtiere dagegen nur 1-mal einer bakteriologischen Untersuchung unterzogen wurden. Den dargestellten Trend aber bestätigen die hier vorliegenden Erhebungen: Tendenziell wurden auch hier unter den erwachsenen Zuchttieren höhere Anteile an Erregerträgern als unter den Zuchtläufnern ermittelt (3.2.2). Die Unterschiede ließen sich jedoch statistisch nicht absichern. Eine Einflussgröße auf dieses Ergebnis könnte die jeweilige antiinfektive Behandlung der Absetzferkel mit Amoxicillin zu Beginn der Flatdeckphase gewesen sein. Während der gesamten Versuchsphase III traten unter den Zuchtläufnern mit einer Lebendmasse von über ca. 30 kg bis zur Auswahl für die Zuchtbenutzung in 576 Untersuchungen mit der

Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nur noch 2 bakteriologisch positive Resultate auf. Die Altersstruktur der Reagenten unter den Sauen wurde nicht erfasst. Empirisch aber war in der Phase III zu bemerken, dass sich die Erreger in jüngeren erwachsenen Zuchttieren tendenziell schneller ausbreiteten und häufiger nachweisen ließen, als unter den Altsauen. Die Schlussfolgerung von WALLGREN et al. (1994a), bei beabsichtigten Sanierungsbemühungen die Jungsauenreproduktion für eine Weile zu verringern oder auszusetzen, ist dennoch fragwürdig: Sie erscheint nur dann sinnvoll, wenn die Erregereradikation in kurzer Zeit gelingt. Anderenfalls könnte sich das Problem bei einer späteren, zwangsweise vermehrten Remontierung potenzieren.

In den Gesamtbestandsuntersuchungen der Phase III wurden die meisten Erregernachweise im Belegstall, und da vor allem unter Jungsauen registriert. Die Ursachen dafür könnten in der physiologischen Belastung der Tiere durch Pubertät und Rausche zu suchen sein. Allerdings stellten positive Befunde während der Laktation im Abferkelstall in der Phase III die Ausnahme dar. Wahrscheinlich ist, dass ein Eber, der lange Zeit unbemerkt die toxinogenen *Pasteurella multocida*-Stämme (Pmt) beherbergte und erst im Zuge der ersten Gesamtbestandsuntersuchung als infiziert erkannt wurde, die Keime fortlaufend auf die empfänglichen, ungeschützten Sauen während der Brunstkontrollen durch den direkten Kontakt übertrug. Dabei waren die weiblichen Zuchtschweine jeweils durch die vorangegangene Laktation oder Pubertät physiologisch beansprucht und daher für die Infektion besonders empfänglich.

4.5 Diagnostische Grenzen des Verfahrens in den Phasen I und II

PETERSEN u. BARFOD (1981, 1982), CHANTER et al. (1989) und TOWNSEND et al. (2000) stellten in Mauskulturen bzw. nach -passagen eine höhere Pm-Isolationsrate fest, als auf künstlichen Nährböden - die erstgenannten Autoren in einem Fall sogar mit 7-mal so vielen Nachweisen. So ist davon auszugehen, dass nicht alle Stämme auf den Selektivmedien ausreichende Wachstumsgrundlagen vorfinden. Auch OSTLE et al. (1994) verweisen auf schwierige Kulturbedingungen für Pm. Hierin kann eine Ursache für Unzulänglichkeiten des diagnostischen Nachweisverfahrens mit dem ELISA, wie in den Phasen I und II des vorliegenden Versuches praktiziert, bestehen. Dieses ist auf die vorherige aerobe Kultivierung der Tupferproben angewiesen. Die wiederholt auftretenden bakteriologisch positiven Befunde in gleichen Aufzuchtgruppen führten WALLGREN et al. (1994b) in erster Linie auf die Infektion durch ältere Tiere zurück. Bei ihren Ergebnissen konnte es sich aber auch um Infektionen innerhalb der gleichen Gruppe handeln. Das angewandte Nachweisverfahren (Nasentupfer, Kultur und Toxinnachweis mit dem ELISA) erlaubte möglicherweise nicht, alle bereits vorhandenen Keimträger mit der ersten Untersuchung zu erfassen (ELLING u. PEDERSEN 1985). Mehrere Autoren (GOODWIN et al. 1990a,b, BINDER et al. 1992, ELIAS et al. 1992, FRYMUS et al. 1992, WALLGREN et al. 1994b) betrachten in ihren Arbeiten fehlende Nachweise der Pmt in einem begrenzten Untersuchungsumfang schon als die nachgewiesene Abwesenheit der Keime in den untersuchten Tiergruppen oder Beständen. Diese Sichtweise birgt die Gefahr einer Fehlbeurteilung der Situationen. Auch im beschriebenen Versuch war es nicht möglich, alle zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits infizierten Tiere als solche zu erkennen. Diese Annahme wird durch die hochsignifikanten ($p < 0,001$) Unterschiede der Nachweishäufigkeiten unter den erwachsenen Zuchtschweinen im letzten Untersuchungszeitraum der Phase II (02.03. bis 12.10.2000: 0,7 %) und bei der ersten Gesamtbestandsuntersuchung mit der PCR (23.10. bis 14.12.2000: 7,6 %) gestützt. Wie für alle diagnostischen Verfahren, die den Nachweis eines Erregers in Untersuchungsmaterialien verfolgen, gilt besonders für die Pmt der Grundsatz: Nur ein positives

Untersuchungsergebnis trägt (abgesehen von falsch positiven Befunden) einen beweisenden Charakter. Die Freiheit von Einzeltieren, Tiergruppen oder Herden kann nur über eine langfristige, intensive Kontrolle und Überwachung unter gezielter Einbeziehung prädisponierter Individuen bestätigt werden.

FRYMUS et al. (1992) von Kaninchen und DIRKS et al. (1973) von klinisch erkrankten Läufern konnten die Pm durch einen wochenlangen direkten Tierkontakt nicht auf junge Ferkel übertragen. Auch die Reisolierung von Pm gelang FRYMUS et al. (1992) nicht. Dagegen erfolgte in den Versuchen von PEDERSEN u. BARFOD (1982) ein wechselseitiger Austausch von Pmt und Bb sogar zwischen den voneinander räumlich getrennten, strikt isolierten Sektionskammern. Daraus wird klar: Die Ausbreitung der Pmt und das mit ihr verbundene Gesundheitsrisiko lassen sich nur schwer kalkulieren. Es gibt keine Gesetzmäßigkeiten für sie, da sie offenbar von vielen, teils nicht zu berechnenden Faktoren abhängen muss. In speziellen Fällen sind diese nicht oder nur schlecht zu erkennen. Allerdings konzentrierten sich nachfolgende Erregernachweise häufig auf die Nachbartiere vorher erkannter Keimträger (BERCOVICH 1978, WALLGREN et al. 1994, ALT et al. 1996, SCHNÜLL 2001). Eine aerogene Übertragung (MÜLLER u. DINTER 1998), auch über weitere Entfernungen (DE JONG et al. 1994), oder die über Vektoren wie den Menschen (DONNIO et al. 1999) sind möglich. Auch vage Ideen einer möglicherweise spontanen Entstehung durch genetische Veränderungen wurden schon geäußert (SCHÖSS et al. 1980, KAVANAGH 1994). Durch die unbewusste Selektion der Keimträger anhand der äußeren Symptome konnten BERKOVICH u. DE JONG (1976) den Anteil klinisch erkrankter Läufer in der Aufzucht auf 0 reduzieren, da die einsetzende Altersresistenz die Gefahr einer späteren Ausprägung, wie auch schon von SEIFERT (1970) registriert, deutlich reduziert.

Die Beispiele und dargestellten Zusammenhänge erklären die Tatsache, dass im vorliegenden Versuch durch die gruppenweisen Untersuchungen und die Selektion der Reagenten in der Phase II eine vollständige Eradikation der Pmt aus dem Gesamtbestand nicht zu bewerkstelligen war (3.2.2). Es gelang aber scheinbar, den Infektionsdruck unter den Zuchtschweinen zu senken. Diese Beobachtung könnte die Hypothese stützen, dass die von SEIFERT (1970) belegte hereditäre Abhängigkeit der röntgenologisch zu diagnostizierenden Deformationen der Kopfknochen auch für die Empfänglichkeit von Individuen und Populationen für Pmt gültig ist. Allerdings war schon eine geringe Anzahl unerkannter Keimträger durchaus imstande, die Erreger an Nachbartiere weiterzugeben und eventuell neue Infektketten aufzubauen. Dazu verblieben ihnen in der Regel ca. 150 Tage (Länge eines Zwischenwurfintervalls) Zeit. Dabei wurden die Erreger sicher häufiger durch direkte Tierkontakte als aerogen oder durch das Betreuungspersonal übertragen. Schon bei der gezielten Nachbeprobung direkter Kontakttiere (Boxengefährtnen) der ermittelten Reagenten aus der Teilbestandsuntersuchung im Wartestall vom 24. Februar am 09. März 2000 wurden unter diesen wiederum Keimträger aufgefunden, während sonst die meisten gruppenweisen Kontrollen im Umgebungszeitraum ohne positive Befunde verliefen. Auch durch die hohen Nachweisraten im Belegstall und unter den Boxengefährtnen der vorher erkannten und selektierten Keimträger in der eigentlichen Sanierungsphase wird dieser epizootiologische Ablauf sehr wahrscheinlich. Mit den wiederholten, in kurzen Zeitabständen veranlassten Beprobungen der unmittelbaren Kontakttiere in der Phase III wurde dieser Annahme Rechnung getragen (3.1.3).

4.6 Einflussfaktoren auf die Infektionsdynamik im Bestand

Die Untersuchungen von AMAAS et al. (1992) stützen die Auffassung, dass Pasteurellen für sich nur eine geringe pathogene Kapazität entwickeln. Sie führen meist erst nach Vorbereitung durch andere Faktoren, wie infektiöse Wegbereiter, beispielsweise *Mycoplasma hyopneumoniae* oder Bb (SCHIMMEL 1992), zu Erkrankungen. Infektionen mit Viren der Aujeszky'schen Krankheit (CALSAMIGLIA et al. 1996) oder des Porzinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndroms (SOLINAC u. LE BRIS 1996) können ebenfalls die Kolonisation von Pmt, ihre Ausbreitung im Bestand und Virulenz fördern. Am 16. März 2000 erfolgte erstmals der Antikörper-, am 28. März dann auch der erste Genomnachweis von PRRS-Viren im vormals negativen Beobachtungsbestand. Aber bereits in der 2. Hälfte des Monats Februar waren milde Atemwegserkrankungen unter den Sauen im Wartebereich registriert und daraufhin eine Teilbestandsuntersuchung auf Pmt unter Anwendung des ELISAs zum Toxinnachweis im Wartebereich veranlasst worden. Mit einem nachgewiesenen Anteil an Keimträgern von 6,2 % unterschied sich das dabei gewonnene Ergebnis signifikant von dem aus der Teilbestandsuntersuchung am 25. November 1999 in der gleichen Stalleinheit (Anteil von 2,4 %, $p = 0,05$), nicht aber von dem aus der ersten Gesamtbestandsuntersuchung in Vorbereitung des Verfahrens (7,7 %). Während in den beiden Folgemonaten bis zum Mai 2000 noch 5 von 298 untersuchten Sauen (= 1,7 %) nach den gruppenweisen Kontrollen wegen Erregernachweisen den Bestand verlassen mussten, traten danach für 4 Monate unter den erwachsenen Tieren keine positiven bakteriologischen Befunde mehr auf (3.2.2). Ein Zusammenhang zwischen der PRRS-Virus-Bestandsinfektion und der erhöhten Nachweisrate im Frühjahr 2000 ist wahrscheinlich.

BERCOVICH (1978) betrachtete die Sauen als einen untergeordneten Faktor in der Pathogenese der PRA und sprach den Umweltbedingungen der Tiere und anderen Erkrankungen eine vorrangige Bedeutung zu. Für die potenzielle Gefährdung der Nachzucht aber, für die Übertragung der Pmt auf die Ferkel, dürften die Mütter eine entscheidende Rolle spielen: Bei WALLGREN et al. (1994b) konzentrierten sich die positiven bakteriologischen Befunde auf die Ferkel von Erregertägern. In 7 von 8 Nachkommen einer 2-mal als infiziert ermittelten Sau und in 10 von 16 Ferkeln ihrer beiden Boxennachbarinnen wurden die Autoren bei der Suche nach dem Erreger fündig, so dass 39 % aller Nachweise in ihrem Untersuchungsbestand allein diesen 3 Würfen entstammten. Obwohl sich die epizootologischen Untersuchungen der Ra SEIFERTs (1970) nicht auf mikrobiologische Erhebungen, sondern ausschließlich auf die morphologischen Abweichungen richteten, beschrieb auch er einen direkten Zusammenhang zwischen der Häufigkeit und Intensität der röntgenologisch erfassbaren Nasenveränderungen der Mütter und denen ihrer Nachkommen.

Aus den aufgeführten Beispielen könnte im vorliegenden Versuch eine mögliche Erklärung für den plötzlichen Anstieg der Nachweisrate für Pmt im Flatdeckbereich bei der Beprobung am 13. April 2000 auf den ungewöhnlich hohen Anteil von 25 % abgeleitet werden. Dieser Anstieg ereignete sich etwa 7 Wochen nach dem Auftreten der zahlreichen bakteriologisch positiven Befunde im Wartebereich während der anlassbezogenen Teilbestandsuntersuchung am 24. Februar 2000. Ein immunsuppressiver Einfluss der beschriebenen PRRS-Virusinfektionen, die nach und nach alle Tiergruppen des Bestandes erfassten, ist durchaus möglich, retrospektiv aber nicht zu klären oder nachzuweisen. Schon einmal, am 23. September 1999, war ein sehr hoher Anteil von 50 % der beprobten Läufer, damals allerdings in einer sehr kleinen Stichprobe von nur 8 Tieren, aufgetaucht. Bei der jetzigen systematischen Aufarbeitung und Zusammenstellung der Ergebnisse erscheint es bezeichnend, dass in jeder der 4 vom 01. bis zum 29. Juli 1999 beprobten Sauengruppen Keimträger

nachweisbar waren. Allein am 01. Juli 1999, als die Isolation von Pmt bei 7 von 21 untersuchten Sauen gelang, war mit 33,3 % ermittelter infizierter Tiere das höchste Nachweisergebnis zu verzeichnen (3.2.2).

4.7 Wert und Ergebnisse serologischer Untersuchungen im Sanierungsverfahren

BECHMANN u. SCHÖSS (1991), GLAWISCHNIG et al. (1992) und DE JONG (1993) bemerken die Unzuverlässigkeit serologischer Untersuchungsergebnisse, wobei SCHNÜLL (2002) auf die Möglichkeit verweist, länger zurückliegende Infektionen zu erkennen und MÜLLER et al. (1996) die Serologie für eine wertvolle „Suchmethode“ halten. ALT et al. (1996) nutzten die Serologie in ihren Sanierungsversuchen. In allen 4 bearbeiteten Herden zusammen konnten sie wohl 81 % der Reagenten nur durch bakteriologische Untersuchungen, doch immerhin 16 % allein durch Antitoxinnachweise und nur 3 % durch beide feststellen. Als alleinige Methode der Keimträgererkennung und auch zur Statusüberwachung negativer Herden kommt die Serologie sicher nicht in Betracht (BECHMANN u. SCHÖSS 1991). Zur Unterstützung der anfänglichen Statuserhebung in der Phase I, für die Identifizierung von Tieren in der Phase II, die sich vor längerer Zeit mit dem Erreger auseinandergesetzt hatten und zum Zeitpunkt der bakteriologischen Untersuchungen nicht mehr als keimtragend zu detektieren waren, sowie für die langfristige Kontrolle und die Überwachung des erreichten Status in der Phase IV hatte sie hier nicht nur ihre Berechtigung: Sie war und ist ein unverzichtbares Instrument zur Sicherung des Sanierungserfolges. Von den 70 in der Phase I ermittelten adulten Reagenten wurden 38 (= 54,3 %) allein anhand bakteriologischer, aber immerhin 30 (= 42,8 %) nur anhand serologischer Untersuchungen und nur 2 Tiere (= 2,9 %) durch beide Methoden gleichzeitig erkannt. In der Phase II zeigte sich ein ähnliches Verhältnis: 50 (= 58,8 %) der 85 aufgefundenen Reagenten unter den erwachsenen Zuchtschweinen wurden durch die Bakteriologie, 32 (= 37,7 %) durch die Serologie und nur 3 Tiere (= 3,5 %) mit beiden ermittelt. So konnten auch wir, wie die vorgenannten Autoren, FOGED et al. (1990) und MARTELLI et al. (1994) nur eine geringe Übereinstimmung von bakteriologischen und serologischen Ergebnissen bei Einzeltieren vorfinden. Dieses Ergebnis scheint plausibel: Durch die körpereigenen Abwehrmechanismen kann die Erregervermehrung und -ausscheidung nach einer diagnostisch nachweisbaren Antitoxinbildung in den Tieren jeweils soweit eingeschränkt sein, dass der Nachweis der Infektion mit kulturellen Methoden nur noch in Ausnahmefällen gelingt.

In ihren Erhebungen wiesen BECHMANN u. SCHÖSS (1991) unter Läufern mit Nasendeformationen bei 56,3 % der Tiere, unter klinisch unauffälligen Läufern bei 24,1 % und unter zumeist klinisch unauffälligen Sauen bei 42,2 % Pmt-Antitoxine nach. Während des eigenen Versuches wurden in den einzelnen Sauengruppen deutlich geringere Anteile von maximal 12,5 % gefunden (3.2.1, Tab. 9). In den unter 3.2.2, Tab. 11, 12 ausgewiesenen Zeitintervallen betrug die Nachweisrate nur höchstens 4,2 %. Serologische Nachweise unter Läufern konnten in immerhin 237 Serumproben gar nicht registriert werden. Diese Ergebnisse stehen in nachvollziehbarem Verhältnis zu den vergleichsweise geringen bakteriologisch nachweisbaren Erregerprävalenzen im Beobachtungsbestand. Die bereits an anderer Stelle diskutierte relativ geringe Empfänglichkeit der Einzeltiere und des Gesamtbestandes für Pmt-Infektionen, die der von SEIFERT (1970) beschriebenen hereditären Abhängigkeit der pathomorphologischen Ausprägung entspräche, könnte sich auch in diesem Ergebnis äußern. Allerdings könnten sie teilweise auch darin begründet sein, dass die Untersuchungen obiger Autoren in den erwiesenermaßen deutlich empfindlicheren embryonalen (fetalen?) bovinen Lungenzellkulturen (ALT et al. 1993), die dieses Versuches in einem modifizierten Antitoxin-ELISA (3.1.4) durchgeführt

wurden. Die geringe Übereinstimmung serologisch und bakteriologisch ermittelter positiver Befunde könnte auch hierin und damit methodisch begründet sein.

Die Ansicht BORDING JENSENs (1990), dass bei natürlichen Infektionen mit Pmt keine nachweisbaren Serumantitoxine gebildet werden, die teilweise durch MARTELLI et al. (1994) eine Bestätigung findet, wird durch die vorliegenden Ergebnisse, wie durch die anderer Untersucher (BECHMANN u. SCHÖSS 1991) widerlegt: unter den ungeimpften, klinisch unauffälligen Sauen waren anfangs immerhin 4,8 % serologisch positiver Reagenten. Das verzögerte Auftreten der serologischen Reaktionen (ALT et al. 1993, DE JONG 1993) ist anhand des hier vorliegenden Materials erkennbar: Im Zeitraum vom 20. Mai bis zum 29. Juli 1999 wurden in 9 untersuchten Sauengruppen mit insgesamt 316 Tieren (Ø 35 Sauen je Gruppe) mit 26 positiven Reagenten und damit fast 3 Sauen je Untersuchungsgruppe eine erhöhte bakteriologische Nachweisrate von 8,2 % festgestellt. In der sich daran anschließenden Periode vom 05. August bis zum 14. Oktober 1999 fiel diese auf einen Anteil von nur 1,2 % (11 Gruppen, 252 Tiere, Ø 23 Sauen je Gruppe, nur 3 Erregernachweise, durchschnittlich in nur jeder 3. Gruppe ein Nachweis) ab. Gleichzeitig aber behielten die serologischen Befunde der Sauen in diesem 2. Zeitraum ein gleichbleibend hohes Niveau von 4,4 % bei. Seit dem März 2000 und damit innerhalb von mehr als 6 Monaten vor der Umstellung des diagnostischen Verfahrens tauchten in den gruppenweisen 377 serologischen Kontrollen erwachsener Tiere keine Antitoxinträger mehr auf. Deshalb wurde mit dem Beginn der Phase III, der eigentlichen Sanierung, von weiteren Untersuchungen dieser Art zunächst abgesehen.

4.8 Verfahrensoptimierung der Sanierungsbemühungen in der Phase III

Vorteile und Grenzen des Einsatzes der PCR

TOWNSEND et al. (2000) konnten durch eine PCR 16 Pm-Stämme, allerdings nach primärer Plattenkultur, als Toxin bildend identifizieren. Die herkömmlichen Kulturmethode und der Toxinnachweis mit dem Pmt-ELISA erlaubten diese Zuordnung nur in 13 Fällen. DE JONG (1993, 2002) beschreibt sogar eine Verdopplung der Nachweisrate mit der PCR gegenüber dem ELISA. Während im Letzteren durch immunologische Reaktionen das gebildete Toxin zum Nachweis kommt (MATTSON u. SÖDERLIND 1990), detektiert die PCR durch das Auffinden des *toxA*-Gens schon das genetische Potenzial der Toxinbildung (ERLER et al. 1993, HOTZEL et al. 1997). Dadurch erübrigen sich die aufwendige bakteriologische Kultur und die phänotypische, nicht unter allen Bedingungen stattfindende Expressierung des Toxins. Die Untersuchung wird bereits aus den Primärtupfern möglich und erlaubt auch den Nachweis nicht vermehrungsfähiger Pmt. Vor allem wegen ihrer höheren Sensitivität, die in günstigen Fällen noch den Nachweis einer geringen Keimmenge von 150 KBE an Abstrichmedien oder einer Konzentration von 20 KBE / ml in flüssigen Suspensionen erlaubt, aber auch wegen ihrer praktischen Vorteile (NAGAI et al. 1994, LICHTENSTEIGER et al. 1996, SCHNÜLL 2001) fiel für die 3. Phase des Sanierungsversuchs die Entscheidung für die Anwendung dieser Methode. Bei der Nachuntersuchung der 10 am 03. Januar 2000 mit der PCR aufgefundenen Keimträger am 08. Januar 2000 konnten mit der PCR immerhin 60 % der Ergebnisse reproduziert werden. Dagegen erbrachten die aerobe Kultur und der Toxinnachweis mit dem Pmt-ELISA aus der Abschwemmkultur in nicht einem Fall ein positives Resultat. Da die aerobe Kultivierung entfiel, lagen für große Stichprobenzahlen die Kosten für die PCR nicht über denen für die Untersuchung im ELISA. Als ein weiterer Vorteil für das Gesamtverfahren erwies sich das sehr schnelle Vorliegen der Resultate: Bereits 24 - 48 Stunden nach

der Probenentnahme war es möglich, die als Keimträger erkannten Tiere zu separieren und über ihren weiteren Verbleib zu entscheiden. Vergleiche früherer Untersuchungen zeigten, dass alle genetisch analysierten Pmt das *tox*A-Gen besaßen, während dieses im Genom aller nicht toxinogenen Stämme fehlte. Als hoch spezifischer Abschnitt konnte das 1,5 kb Hind III-Fragment des Gens identifiziert werden (KAMPS et al. 1990), das auch in der hier eingesetzten PCR als Matrix verwendet wurde. Bei ihren Untersuchungen in geimpften Beständen gelang DE JONG et al. (1996) der Nachweis der Pmt in 2 (bezogen auf die Tiere) bzw. 5 % (bezogen auf die Proben) der Fälle nur im ELISA, während die PCR negativ reagierte. Deshalb empfahlen sie schlussfolgernd, beide Methoden zur Erhöhung der Sicherheit parallel zur Anwendung zu bringen. Aus Kosten- und Aufwandsgründen musste hier davon Abstand genommen werden. Es wurde versucht, diesen Nachteil durch die relativ hohe Untersuchungsfrequenz zu kompensieren.

Wie bei MATSCHULLAT et al. (1994), die letztlich mit oder ohne eine Reinigung der Nasen keine unterschiedlichen Ergebnisse erzielten, wurde auch im hier beschriebenen Versuch darauf verzichtet. Trotz der hohen Spezifität der PCR waren die Probennehmer um eine saubere Entnahme und eine geringstmögliche Kontamination der Tupfer mit Fremd- und Schmutzkeimen bemüht. Die Notwendigkeit zur unmittelbaren Bearbeitung des entnommenen Materials (LUKSCH et al. 1999), die jeweils bereits wenige Minuten nach der Gewinnung einsetzte, ergab sich hier schon aus dem Streben, die erkannten Reagenten unmittelbar und ohne Verzögerung isolieren zu können.

Gesamtbestandsuntersuchungen, Untersuchungsintervalle und Erregerprävalenz

Trotz einer annähernd 100 %igen Sensitivität und Spezifität der PCR, die LICHTENSTEIGER et al. (1996) im Vergleich mit anderen Tests bestimmten, können auch unter Einbeziehung dieser Methode häufig nicht alle Erregerträger bei der ersten Untersuchung erkannt werden. CAMERON et al. (1980) und DE JONG (2002) nennen die intermittierende Ausscheidung, die Räumlichkeit der Nasen- und Rachenhöhle und die lokal begrenzte Kolonisation der Pmt als mögliche Gründe. Besonders verweisen sie in diesem Zusammenhang auf die Art der Probenentnahme. Diese führten die Mitarbeiter des SGD für die Gesamtbestandsuntersuchungen Ende Mai 2001 und im März 2003 selbst aus, um persönlich die Qualität dieser Arbeit einschätzen zu können. Um den Infektionsstatus aller Einzeltiere möglichst zeitgleich und damit den Status der Herde so exakt wie möglich zu erfassen, wurden in der Phase III des Versuches die Perioden der einzelnen Beprobungen in den jetzt eingeführten Gesamtbestandsuntersuchungen immer mehr verkürzt. Realisierbar wurde dies auch durch die sich ständig verringernde Anzahl positiver Befunde und demzufolge immer weniger notwendiger Wiederholungskontrollen unter den Boxengefährtnen. Gleiches galt schrittweise für die zeitlichen Abstände zwischen den Gesamtbestandsuntersuchungen. Die verstärkte Beachtung konzentrierte sich auf die unmittelbaren Kontakttiere der Reagenten. Im Hinblick auf die intermittierende Vermehrung und Nachweisbarkeit der Erreger ergibt sich die Frage nach einer optimalen Dauer der Zwischenbeprobungsintervalle der Einzeltiere. Wegen der Komplexität der Einflussfaktoren auf die Übertragungsrate, die Empfänglichkeit und die Diagnostizierbarkeit wird es auch in künftigen Untersuchungen schwerfallen, diese Frage abschließend und allgemeingültig exakt zu beantworten. Im hier beschriebenen Versuch führte die aus empirischen Beobachtungen resultierende, faktisch willkürliche Festlegung eines Zwischenbeprobungszeitraumes gleicher Gruppen von ca. 14 Tagen offenbar zum Erfolg.

In der Ausgangskontrolle zu ihrem Sanierungsverfahren ermittelte SCHNÜLL (2001) allein mit Nasentupferproben und dem Toxinnachweis im Pmt-ELISA trotz der bis dahin erfolgten Impfung

einen Anteil bakteriologisch positiver Tiere von 23,7 %. Im Laufe des Unternehmens mussten 49 Tiere (= 61,3 % des Ausgangsbestandes) innerhalb von 4 Monaten die Stammherde verlassen, die jedoch 18 Monate nach Beginn der Sanierung nur noch 19 Tiere und damit nur noch knapp 24 % des ursprünglichen Bestandes umfasste. Bei der ersten Gesamtbestandsuntersuchung in der Phase III des hier ausgewerteten Versuchs mit der Entnahme von Nasen- und Rachentupferproben und der Anwendung der PCR wurde ein Anteil von 7,6 % der bakteriologischen Proben als positiv registriert, wobei ein Teil der Schweine als Kontakttiere erkannter Reagenten mehr als 1-mal kontrolliert wurde. Damit lag die nachweisbare Prävalenz deutlich unter der von SCHNÜLL (2001) genannten. Bei der Bewertung sind allerdings die Reduzierung von Keimträgern und die Erregerverdünnung in der Phase II dieses Versuches zu berücksichtigen. Durch eine Anwendung der PCR bei der ersten, gleich zu Beginn des Verfahrens in der Erhebungsphase durchgeführten Gesamtbestandsuntersuchung (14. April bis 20. Mai 1999) wäre sicher ein deutlich höherer Anteil an Keimträgern nachweisbar gewesen.

Erweiterung der Entnahme von Analysematerial um Rachentupferproben

Der bevorzugte Kolonisationsort der Pmt sind die Krypten der Tonsillen (PIFFER et al. 1992). Das erklärt ihre höhere Nachweisrate aus Mandel- bzw. Rachentupferproben früherer Erhebungen (ACKERMANN et al. 1994, DE JONG et al. 1994, 1996, MAGYAR u. KOVÁCS 1996). In einer sehr kleinen Stichprobe von nur 10 Tieren konnte hier ebenfalls der Wert der Rachentupferuntersuchung, trotz ihres Aufwandes im Stall und im Labor, und die Überlegenheit der Kombination mit den sonst allgemein üblichen Nasentupferprobenentnahmen demonstriert werden: Ein Drittel der nachgewiesenen Keimträger waren nur aus Rachentupferproben und damit häufiger, als nur durch Nasentupferanalysen erkennbar (3.2.3).

4.9 Wirtschaftliche Aspekte des gewählten Bekämpfungsweges

Während im Sanierungsversuch von SCHNÜLL (2001) wirtschaftliche Einbußen durch die notwendige Schaffung einer nachzuchtfreien Periode entstanden, verringerte sich im hier ausgewerteten Versuch die züchterische Selektionsbasis durch die Reagentenmerzung. In der Phase II mussten 155 klinisch gesunde Sauen wegen positiver serologischer oder bakteriologischer Reaktionen, in der Phase III 68 Sauen und 1 Eber wegen des *toxA-Gen*-Nachweises den Bestand verlassen. Damit mussten auch im hiesigen Versuch fast 50 % des Ausgangstierbestandes außerplanmäßig ersetzt werden. Der in den Jahren zuvor verzeichnete Leistungszuwachs konnte während des Sanierungsverfahrens nicht erzielt werden. Zeitweise notwendige erhöhte Remontierungen schufen organisatorische Probleme und führten zu einer spürbaren gesamtgesundheitlichen Destabilisierung des Bestandes. Eine erhöhte Frequenz von Saugferkeldurchfällen und Dermatitis durch *Staphylococcus hyicus* („Ferkelruß“) waren zu verzeichnen. Der Sauendurchschnittsbestand der Herde betrug auch nach dem Abschluss der eigentlichen Sanierung in der Phase III nach wie vor noch ca. 500 produktive Sauen. Aus heutiger Sicht ist ein schnelleres und daher kostengünstigeres Vorgehen vorstellbar: Bei konsequenter Anwendung der PCR-Methode in mehreren, kurz (etwa im Abstand von ca. 2 - 4 Wochen) aufeinander folgenden bakteriologischen Gesamtbestandsuntersuchungen mit Wiederholungskontrollen der unmittelbaren Kontakttiere erkannter Keimträger (ca. 7 - 14 Tage nach deren Selektion) könnten wahrscheinlich innerhalb einer überschaubaren Frist die auf diesem Wege feststellbaren Reagenten gemerzt und die Herde in einen PRa unverdächtigen Bestand überführt werden. Dabei wäre es erforderlich, in den ersten Beprobungen durch parallele serologische Untersuchungen auch Tiere mit zurückliegenden Infektionen zu erkennen. Ihr potenziell positiver

Infektionsstatus ließe sich mit bakteriologischen Methoden wegen der stark reduzierten Ausscheidung nicht mehr ermitteln (ALT et al. 1993). In jedem Fall wäre damit zu rechnen, dass auch (hoch-)tragende Sauen als Keimträger identifiziert den Bestand verlassen müssten. Abhängig von der, z. B. aus einer Stichprobe geschätzten, Anzahl erwarteter Pmt positiver Tiere, müsste vor Beginn einer solchen Unternehmung Klarheit über den Verbleib der und das weitere Verfahren mit diesen Sauen bestehen. Im vorliegenden Fall wäre die mögliche Stallkapazität zur Separation und gesonderten Behandlung durch das thesenhaft geschilderte Szenarium überschritten worden. So stellte das beschriebene Vorgehen unter den gegebenen Voraussetzungen die einzige praktikable Möglichkeit dar.

Durch einen Teilbestandsaustausch nach der bakteriologischen und serologischen Identifizierung nachgewiesener und potenzieller Keimträger lassen sich schätzungsweise bis zu 60 % der Kosten gegenüber einem Gesamtbestandsaustausch einsparen (ALT et al. 1996). Im vorliegend beschriebenen Versuch erforderte die aufwendige Diagnostik etwa zwei Drittel der Ausgaben für die Wiederbeschaffung von Jungsauen in einer dem Ausgangsbestand entsprechenden Anzahl. Dabei wurden allerdings die Arbeitskosten für die Unterstützung der Diagnostik und die Reagentenselektion, sowie die Impf- und Behandlungskosten der separierten Keimträger in der Phase III noch nicht berücksichtigt. Dem gegenüber erhöhen sich aber auch der materielle und der Zeitaufwand für den Gesamtbestandsaustausch über den Zukaufswert der neuen Zuchttiere hinaus: Eine ortsgetrennten Vorstapelung und Belegung der neuen Jungsauen, ihr Transport bei der Wiederbeschickung der Anlage, ein mindestens 10- bis 16-wöchiger Produktionsausfall an Mastläufern und der Ersatz von Jungsauen, die in den ersten 6 Monaten der anlaufenden Produktion ausscheiden könnten, verursachen ebenfalls erhebliche Kosten.

4.10 Verfahren mit identifizierten Reagenten und epizootiologische Aspekte

Zur weiteren Haltung eines Teiles der Keime tragenden Sauen bis nach ihrem Abferkeln und der Aufzucht der Nachkommen im Bestand gab es aus ethischen und wirtschaftlichen Gründen keine Alternative. Die mit diesen Tieren praktizierte Verfahrensweise musste die Übertragung der Pmt auf den negativen Teil der Zuchtherde und auch auf die Ferkel verhindern. Die Isolation der Sauen sollte Kontaktinfektionen unterbinden. Der glückliche Umstand der Ablüfter über den separierten Reagenten half, die Gefahr aerogener Infektionen (MÜLLER u. DINTER 1998) zu verringern. Durch Einweisung und entsprechendes Verhalten der Betreuer wurde deren Vektorenrolle eingeschränkt. OSTLE et al. (1994), MAGYAR u. KOVÁCS (1996) und UDOVIČIĆ et al. (1996) schlussfolgerten aus ihren Versuchen eine Reduzierung der bakteriellen Belastung der Nachkommen mit Pmt durch die Impfung der Mütter. Hier wurde dies durch eine 2-malige Impfung der Sauen im Abstand von 4 Wochen mit einer Vakzine angestrebt, die inaktivierte Bb und dermonekrotisches Pm(Typ D)-Toxoid enthielt. Diese Vakzinierung wurde mit einer einmaligen parenteralen antiinfektiven Behandlung mit ca. 20 mg / kg Körpermasse Oxytetracyclin (OTC) kombiniert und durch eine 10-tägige orale Versorgung mit der gleichen Wirkstoffmenge Chlortetracyclin (CTC) ergänzt. PEJSAK et al. (1990a) konnten durch 3 verschiedene Regime (1. alleinige 3-malige Behandlung der Ferkel mit OTC, 2. Kombination der Behandlung der Ferkel mit der Impfung der Sauen, 3. Impfung der Sauen und der Ferkel) positive Auswirkungen sowohl auf die Lebendmasseentwicklung, als auch auf die Verbreitung der pathomorphologischen Symptome im Bestand erzielen. Die Ergebnisse der alleinigen Ferkelbehandlung übertrafen nach denen der Kombination noch die der alleinigen Impfungen von Sauen und Ferkeln. Die von HEER et al. (1995) gewählte Dosierung von 300 g CTC pro Tonne

Sauenfutter (ca. 0,75 g pro Tier und Tag, etwa 3 mg / kg Körpermasse) dürfte nach heutigen Maßstäben für die MHK und benötigten Serumantikörperspiegel eher zu gering bemessen gewesen sein. Der Effekt der Separation, des Schutzes und der Behandlung der erkannten Keimträger war im hier geschilderten Versuch insgesamt so sicher, dass sich keine Neuinfektionen im Bestand mehr nachweisen ließen. Bei den meisten Reagenten - die Ausnahmen bildeten die ungeimpften Sauen mit kurzfristigen Abferkelterminen - konnten auch maternale Impfantikörper laktogen auf die Ferkel übertragen werden (BORDING JENSEN 1990, ALT et al. 1993). Diese könnten auch eine passive Schutzwirkung auf die Ferkel entfaltet haben: Auch ohne eine Impfung oder eine gezielte Behandlung gingen von den Würfen der Keimträger keine Infektionen mit Pmt aus, die die räumlich weitmöglichst entfernt gehaltenen Zuchtläufer (3.1.2, 3.1.5; 9.9, Abb. 17) erreichten. FLAUS u. TAN (1994) reduzierten die MHK von CTC und OTC gegen Pm-Stämme durch die Kombination dieser Wirkstoffe mit Lincomycin. Wie das vorliegende Beispiel zeigt, kann die Erregerstreuung auch bei Verwendung einer Wirkstoffgruppe allein unter entsprechenden Rahmenbedingungen eingedämmt werden. Nach SCHÖSS (1980) ist die Beseitigung der Pmt aus den Stallanlagen durch sachgerecht durchgeführte Serviceperioden kein Problem. Auch hier gingen offenbar nach der Reinigung und Desinfektion der Aufstellungsplätze der Reagenten, ergänzt durch die mehrwöchige biologische Ruhephase, von diesem Stallbereich keine neuen Infektionen mehr aus.

Im Hinblick auf eine mögliche wechselseitige Übertragung der Pmt zwischen Schwein und Mensch (NIELSEN u. FREDERIKSEN 1990, DONNIO et al. 1999) wäre es in der 3. und 4. Phase des Versuches durchaus angebracht und sinnvoll gewesen, auch das Betreuungspersonal durch (vorsichtige) Nasen- und Rachentupferproben in die Kontrollen mit einzubeziehen. Bei künftiger Planung ähnlicher Projekte sollte dieser Gesichtspunkt Berücksichtigung finden und die Bereitschaft der Betreuer für diese Maßnahmen erwirkt werden. Wegen der nicht auszuschließenden Vektorenrolle anderer Tierspezies (FRYMUS et al. 1992, 1996), nicht nur für die Verbreitung von Pmt, wurden und werden Schädlinge, wie im Hygieneplan vorgesehen, im Beobachtungsbestand regelmäßig und intensiv bekämpft. Haustiere anderer Arten sind nicht nur aus den Stalleinheiten, sondern vom gesamten Gelände der Anlage verbannt. Der streng kontrollierte, eng beschränkte Personenverkehr wird ausschließlich durch eine Hygieneschleuse geführt. Betriebsfremde Personen haben vor dem Betreten der Anlage mit ihrer Unterschrift im Besucherbuch zu bestätigen, dass sie in den jeweils zurückliegenden 48 Stunden keinen Kontakt zu Schweinen anderer Bestände hatten.

4.11 Kontrolle des Sanierungserfolgs, Bestandsüberwachung und diagnostische Probleme

Sowohl für eine Kontrolle des Erfolges (DE JONG 2002), wie auch wegen der Gefahr von Reinfektionen nach der Eliminierung pathogener Erreger aus den Beständen (SCHÖSS 1980, BECHMANN u. SCHÖSS 1991) ist eine langfristige regelmäßige Untersuchung der Herden erforderlich (GOODWIN et al. 1990a, MATSCHULLAT 1994). Dem wurde durch die periodische klinische, sowie stichprobenweise bakteriologische und serologische (DE JONG u. AKKERMANS 1986) Kontrolle des Versuchsbestandes in der Phase IV Rechnung getragen. Da es sich hier um einen geschlossenen, sich selbst reproduzierenden Bestand handelt, in den nur das Ebersperma eingeführt wird, hat die Sicherung des einmal erreichten Status eine gute Perspektive.

Auch bei der Untersuchung mit der PCR können falsch positive Untersuchungsergebnisse auftreten (DE JONG 1993). Die Fehlereinschätzung der *Taq*-Polymerase ist mit ca. 1 unter 5000 Nucleotiden vernachlässigbar klein. Das Hauptrisiko dieser Methode liegt in der Gefahr der Kontamination mit

einer Fremd-DNA, in Verschleppungen von DNA-Fragmenten oder amplifizierten Produkten aus dem Labor in die Proben (LINZ u. DEGENHARDT 1990). Nur um einen solchen Laborfehler kann es sich bei der stichprobenweisen bakteriologischen Kontrolle im Februar 2002 gehandelt haben, als plötzlich 40 % (erwachsene Zuchttiere) bzw. 43,8 % (Nachzucht) der Proben zu einer positiven Reaktion der PCR führten. Ein Anteil in dieser Höhe, der sich zudem nicht einmal annähernd reproduzieren ließ, war während des gesamten Verfahrens noch nicht aufgetreten. Die äußeren Umstände des Zustandekommens dieser Ergebnisse, wie auch die Resultate der Abklärungs- und Nachuntersuchungen (3.2.4) lassen hier von falsch positiven Reaktionen ausgehen. Für die einzelne positive Reaktion der Proben des jungen Ebers im September 2002, die sich wiederum durch die Umgebungsuntersuchungen nicht bestätigen ließ, könnten theoretisch auch noch Sequenzähnlichkeiten verschiedener Gene kontaminierender Mikroorganismen infrage kommen (LINZ u. DEGENHARDT 1990). Die zeitweisen Unsicherheiten wurden durch die Gesamtbestandsuntersuchungen im März 2003 und die bis in die Gegenwart hineinreichenden regelmäßigen klinischen und bakteriologischen Kontrollen inzwischen ausgeräumt. Mit den in der Phase IV des Versuches wieder ergänzend aufgenommenen stichprobenweisen serologischen Untersuchungen könnten auch Antikörper einer widerrechtlichen Impfung des Sauenbestandes über längere Zeit nicht unentdeckt bleiben.

ALT et al. (1996) gingen nach einer 4-maligen negativen Beprobung der Herden von gelungenen Eradikationen aus. Auch im hier beschriebenen Versuch wurde nach der 4. bakteriologischen Gesamtbestandsuntersuchung der Unverdächtigkeitsstatus erstmals schriftlich bestätigt. Allerdings lagen zwischen den letzten fraglichen Befunden und dieser Bestandsuntersuchung wiederum fast 6 Monate. In diesem Zeitraum wäre die Ausbreitung eines unentdeckten Keimträgertums von Einzeltieren sehr wahrscheinlich flächendeckend aufgetreten und diagnostisch nachweisbar gewesen. Die fortgesetzten, regelmäßigen klinischen sowie stichprobenweisen bakteriologischen und serologischen Untersuchungen mit negativen Ergebnissen, die mit Ausnahme der Serologie auch den Mastbestand überwachen, bestätigen immer wieder erneut diese Überzeugung. Im Gegensatz zu SCHNÜLL (2001) wird hier die Auffassung vertreten, dass die Sanierung eines Schweinezuchtbestandes von Pmt durch die Selektion nachgewiesener und potenzieller Keimträger unter speziellen, hier beispielhaft geschilderten Voraussetzungen auch bei laufender Produktion möglich ist. Die Beobachtungen SEIFERTs (1970) und WALLGRENs et al. (1994b) lassen erbliche Dispositionen sowohl für Infektionen als auch für Erkrankungen realistisch erscheinen. Eine hypothetisch angenommene, hier aus den vorgefundenen niedrigen Prävalenzen von Antitoxinen und aktuell nachweisbaren Infektionen ableitbar vorliegende, genetisch determinierte relativ geringe Empfänglichkeit des bearbeiteten Tiermaterials für Pmt-Infektionen (4.1) könnte diesen Erfolg im konkreten Fall begünstigt haben.

5 Schlussfolgerungen

In Auswertung des beschriebenen Sanierungsversuches lassen sich die folgenden Schlussfolgerungen ableiten:

1. Die Eradikation toxinogener Stämme von *Pasteurella multocida* auf dem dargestellten Weg durch die Selektion potenzieller und nachgewiesener Keimträger ohne gezielte antiinfektive Behandlungs- und immunprophylaktische Maßnahmen erscheint auch in größeren, geschlossenen Zuchtschweineherden mit einigen hundert produktiven Sauen und eigener Remontierung bei laufender Produktion prinzipiell möglich.
2. Die Pmt-Bestandssanierung durch die Merzung potenzieller und nachgewiesener Keimträger eignet sich vor allem für Zuchtherden, in denen selbst keine oder nur moderate klinische Erscheinungen der PRa auftreten, die Erreger oder gegen sie gerichtete Antitoxine aber mit sensitiven diagnostischen Verfahren in einer geringen bis mäßigen Prävalenz bis etwa 15 -20 % auffindbar sind. Bei einer Nachweisbarkeit über die genannten Anteilswerte hinaus sollten zunächst andere Bekämpfungsmöglichkeiten (bestandsorganisatorische, hygienische, gezielte therapeutische oder immunprophylaktische Maßnahmen, partielle Selektion), die mittelfristig zu einer Erregerreduzierung im Bestand führen, gewählt werden. Für eine wirtschaftlich notwendige kurzfristige Eradikation wäre einem Gesamtbestandsaustausch der Vorzug zu geben.
3. Die Erfolgsaussichten eines derartigen Versuches hängen in hohem Maße von der Gewährleistung notwendiger Voraussetzungen, wie der wirtschaftlichen Stabilität des Betriebes, dem Problembewusstsein und Engagement der daran Beteiligten und den tiergesundheitslichen, arbeitsorganisatorischen und veterinärhygienischen Grundlagen wie der möglichen Durchsetzung des Alles-rein-alles-raus-Prinzips mit konsequenten Serviceperioden im Abferkel- und Läuferaufzuchtbereich sowie einer möglichst langen altersgetrennten Aufzucht ab.
4. Zur Ermittlung der Keimträger sollte ein hoch sensitives Verfahren, wie die kombinierte Entnahme von Nasen- und Rachentupferproben durch geschulte, erfahrene und möglichst kommerziell unabhängige Probennehmer und die bakteriologische Untersuchung mit einer Methode, die schon das genetisch determinierte Vermögen der Erreger zur Toxinbildung erkennen lässt, in einem nachgewiesenermaßen geeigneten Labor zur Anwendung kommen. Dieses Labor sollte kontinuierlich von staatlichen Akkreditierungseinrichtungen überwacht werden und sich regelmäßig an internationalen Ringvergleichen beteiligen. Wegen ihrer hohen Spezifität und Sensitivität, Standardisierung und Reproduzierbarkeit, der relativ moderaten Kosten, des schnellen Vorliegens der Ergebnisse sowie der Möglichkeiten eines hohen Probendurchsatzes und der Untersuchung aus primärem Probenmaterial ohne vorherige kulturelle Anzüchtung eignet sich besonders die PCR in diesem Verfahren als Nachweismethode.
5. Die Suche nach zu selektierenden Erregerträgern sollte gesamtbestandsweise alle Altersgruppen, spätestens ab etwa der 10. - 12. Lebenswoche oder ca. 25 - 30 kg Lebendmasse, einbeziehen.
6. Vor Beginn der eigentlichen Sanierungsbemühungen sollte durch die bakteriologische und serologische Kontrolle einer möglichst repräsentativen Stichprobe (eventuell ca. 20 % des Bestandes) der Versuch unternommen werden, die Prävalenz des Erregers in der Herde, damit die Anzahl zu selektierender Tiere und die wirtschaftliche Belastung einzuschätzen.

5 Schlussfolgerungen

7. In der Planung des Sanierungsablaufes sollten konkrete Vorstellungen über den Verbleib und die weitere Behandlung auch (hoch-)tragender, aus der Herde zu entfernender Reagenten erarbeitet werden. Zu ihrer Versorgung und zeitlich begrenzten weiteren wirtschaftlichen Nutzung würde sich beispielsweise die Einrichtung örtlich getrennter Gastbetriebe mit separater personeller Bewirtschaftung eignen.
8. Zur Unterbrechung der Infektketten sind kurze Zeitintervalle von weniger als 4 Wochen zwischen den einzelnen Gesamtbestandsuntersuchungen erforderlich, die als konzertierte Aktionen in möglichst engen Perioden vorzusehen sind. Eine zwischenzeitliche Wiederholungsuntersuchung unmittelbarer Kontakttiere (Boxengefährten oder Nachbartiere) der detektierten Reagenten (ca. 7 - 14 Tage nach der Selektion) kann den Selektionsprozess beschleunigen oder für diesen essentiell sein.
9. Am Beginn des Verfahrens sind neben den bakteriologischen zunächst auch serologische Untersuchungen zum Auffinden von Antitoxinträgern notwendig, deren potenzielle Infektionen sich über den direkten Erregernachweis nicht mehr feststellen lassen.
10. Zur Effizienzerhöhung der Selektion bzw. zur Kontrolle des Eradikationserfolges bieten sich vor allem Phasen klinischer (vor allem Atemwegs-)Erkrankungen von Tiergruppen und erkrankte Einzeltiere an.
11. Das Betreuungspersonal sollte, z. B. durch die Untersuchung von Bronchial- und Nasenschleimproben, in die bakteriologischen Kontrollen einbezogen werden.
12. Wegen ihrer möglichen Vektorenrolle sind alle Tiere anderer Spezies, vor allem möglichst auch Schädner, aus der unmittelbaren Tierumgebung, den Stalleinheiten und eventuell auch vom Anlagengelände fernzuhalten. Um eine von vielen Gefahren der Reinfektion eines sanierten Bestandes (durch kontaminierte Hilfsmittel) auszuschließen, sollte die Möglichkeit geprüft werden, künftig das Ebersperma ausschließlich aus einer Besamungsstation mit einem kontrolliert Pmt-unverdächtigen Eberbestand zu beziehen.
13. Die gesamtgesundheitliche Stabilität des Tierbestandes (z. B. die Häufigkeit von Krankheitsausbrüchen [Atemwegs-, Darm- und Urogenitalerkrankungen], der allgemeine mikrobielle Gesundheitsstatus - insbesondere die An- und Abwesenheit sonstiger Erreger wirtschaftlich relevanter Erkrankungen [Mycoplasma hyopneumoniae, Brachyspira hyodysenteriae, Actinobacillus pleuropneumoniae, Sarcoptes scabiei var. suis ...] und viraler Immunsuppressoren [PRRS-Viren, Porzines Cytomegalievirus, Porzines Circovirus ...]) entscheidet mit über das Erreichen des Eradikationszieles.
14. Die sichere Bewertung des Sanierungserfolges wie auch die Feststellung von Bestandsreinfektionen sind nur durch regelmäßige klinische, bakteriologische und serologische Kontrolluntersuchungen repräsentativer Stichprobenumfänge unter Einbeziehung prädisponierter Tiergruppen zu gewährleisten. Wenn die Möglichkeit dazu gegeben ist, sollten pathomorphologische Untersuchungen die diagnostische Palette erweitern.
15. Vor dem Beginn eines derart aufwendigen Sanierungsversuches, dessen Gelingen nicht sicher ist und dessen Dauer und Kosten anfangs nicht absehbar sind, sollte mit Hinblick auf den

wirtschaftlichen Effekt und den Wert des genetischen Materials, aber auch auf die mögliche Eliminierung anderer Erreger und einen vorstellbaren Leistungszuwachs ein Gesamtbestandsaustausch kritisch geprüft und erwogen werden.

6 Zusammenfassung

Bodo Thom

Reagentenselektion - eine mögliche Strategie zur Bekämpfung der Progressiven Rhinitis atrophicans (PRa) in einem geschlossenen Schweinebestand unter der Berücksichtigung der Dynamik und der Nachweismethoden toxinogener *Pasteurella multocida*

Institut für Bakteriologie und Mykologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
Eingereicht im Februar 2009

(104 Seiten, 19 Abbildungen, 17 Tabellen, 215 Literaturangaben, 9 Anhänge)

Schlüsselwörter: Rhinitis atrophicans, Schwein, toxinogene *Pasteurella multocida*, Bekämpfung, Diagnostik

Über eine lange Zeit galt die Merzung der gesamten Herde und die Repopulation aus von toxinogenen *Pasteurella multocida* (Pmt) freien Herkunft als der einzig sichere Weg zur Eradikation des Erregers und so zur Verhinderung klinischer Erkrankungen der Progressiven Rhinitis atrophicans (PRa). Die Selektion infizierter Tiere schien nur in seltenen Ausnahmefällen erfolgreich zu verlaufen.

In früheren Versuchen (GEIGER et al. 1992, DE JONG et al. 1994, ALT et al. 1996, SCHNÜLL 2001) wurde ein Sanierungserfolg in der Regel in kleinen, manchmal akut infizierten Herden mit weniger als 100 Sauen und / oder durch die Kombination der selektiven Diagnostik mit organisatorischen, medikamentösen und / oder immunprophylaktischen Maßnahmen erreicht.

Im Unterschied zu diesen Beispielen wurde hier versucht, die Keime aus einer latent infizierten, geschlossenen Zuchtherde mit etwa 500 produktiven Sauen und Eigenremontierung an nur einem Standort ohne ein Frühabsetzen, Medikation oder Vakzinierung bei laufender Produktion allein durch die Selektion der Keimträger zu eradikieren.

Der Bestand, der Mastläufer, Jungsauen für die Eigenremontierung und Zuchteberferkel für eine Besamungseberstation produziert, ist in 4 Stalleinheiten (Belegstall, Wartestall, Abferkel- und Absetzläuferstall, Jungsauenaufzuchtstall) untergebracht. Anlass für den Versuch waren klinische Erscheinungen der PRa bei gelieferten Mastläufern. In der Untersuchungsherde selbst aber traten nie klinische Symptome der Krankheit auf.

Der Versuch lief in 4 zeitlichen Phasen ab: 1. Nachweis der Pmt, 2. Reagentenselektion nach gruppenweiser serologischer und bakteriologischer Untersuchung im Enzym linked immunosorbent assay (ELISA), 3. Selektion der Keimträger nach bakteriologischen Gesamtbestandsuntersuchungen durch Nasen- und Rachentupferproben mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und 4. Kontrolle und Überwachung des Sanierungserfolgs.

Zu Beginn wurden eine serologische Prävalenz von 4,8 % und eine bakteriologische Nachweishäufigkeit von 7,7 % im ELISA ermittelt. Nach einer Erregerreduzierung betrug der Anteil der Pmt-Nachweise mit der PCR anfangs noch 6,2 %. Durch die Selektion infizierter Tiere konnte der Erreger aus der Herde eliminiert werden, was regelmäßige klinische, bakteriologische und serologische Kontrollen bestätigten. Im eigenen Mastbestand wurden keine Symptome der PRa beobachtet.

Aus dem Versuch ist zu schlussfolgern: Die Sanierung größerer Zuchtherden auf dem beschriebenen Weg ist möglich. Neben guten Umwelt- und arbeitsorganisatorischen Bedingungen sind dazu ein hoch sensitives Verfahren zur Erkennung der infizierten Tiere und kurze Untersuchungsperioden notwendig. Zur Diagnostik eignen sich die Entnahme von Nasen- und Rachentupferproben und ihre Untersuchungen in der PCR. Der Sanierungserfolg kann nur nach einer längeren Periode (ca. 2 Jahre) regelmäßiger klinischer, bakteriologischer und serologischer Kontrollen als sicher betrachtet werden.

Bodo Thom

The selection of the respondents - a possible strategy to fight against Progressive Atrophic Rhinitis (PAR) in a closed swine herd with considering the dynamics and the methods for diagnostics of toxigenic *Pasteurella multocida*

Institute of Bacteriology and Mycology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig
Submitted in February 2009

(104 pages, 19 figures, 17 tables, 215 references, 9 appendices)

Keywords : Atrophic Rhinitis, pig, toxigenic *Pasteurella multocida*, fight against, diagnostic

For a long time liquidating the entire herd and repopulating from origins free from toxigenic *Pasteurella multocida*-strains (PMT) used to be the only safe way for eradication of the germs and so preventing the clinical illness of PAR. Selecting infected animals seemed to be successful only in few cases.

In earlier attempts (GEIGER et al. 1992, DE JONG et al. 1994, ALT et al. 1996, SCHNÜLL 2001) there were reached sanitations successes usually in smaller, sometimes acutely infected herds with less than 100 productive sows and / or by the combination of selective diagnostic programs by organizational, medicamentous and / or immune-preventive measures.

In contrast to these examples here was tried to eliminate the pathogen from a latently infected, closed breeding herd with about 500 productive sows and self-reproduction of only one location without early weaning, medication or vaccination with current production by selecting the germ carriers alone.

The existence producing growers for fattening, gilts for self-reproduction and breeding boars piglets for artificial insemination is housed in 4 stable units (for insemination, for the gestation period, for farrowing and growing, for raising the gilts). Reason for the test were clinical symptoms of PAR in growers sold by the farm. But there were never any clinical symptoms of the disease within the attempted herd.

The test ran off in 4 temporal phases: 1. proving the PMT, 2. selecting respondents after serological and bacteriological examinations in groups by an Enzym linked immunosorbent assay (ELISA), 3. selecting the germ carriers after bacteriological examinations of the entire breeding herd by nasal and pharyngeal swab samples with a Polymerase chain reaction (PCR) and 4. controlling and observing the eradication success.

At the start there were determined the serological prevalence of 4,8 % and the frequency of bacteriological proofs of 7,7 % by the ELISA. After reducing the germs the share of the proofs of PMT by the PCR at first amounted to 6,2 %. By the selection of infected animals the pathogen could be eliminated from the herd. This was confirmed by regular clinical, bacteriological and serological controls. In the own existence of finishers there were not observed any clinical symptoms of PAR.

The conclusions of the attempt: It is possible to rehabilitate bigger breeding herds by the described way. Among good environmental and organizational conditions there are a high-sensitive procedure for the detection of infected animals and short periods of the examinations necessary. For diagnosing the sampling of nose and pharyngeal swabs and the examinations by the PCR are suited. The sanitation success can be regarded as secured only after a longer period (about 2 years) of regular clinical, bacteriological and serological controls.

8 **Literaturverzeichnis**

1. Ackermann H. BiAS für Windows 7.07 -12/2003. Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Klinikum, Abteilung für Biomathematik, D-60590 Frankfurt am Main, Germany. epsylon, D-25785 Nordhastedt, Germany
2. Ackermann MR, Adams DA, Gerken LL, Beckmann M J, Rimler RB. Purified *Pasteurella multocida* protein toxin reduces acid phosphatase positive osteoclasts in the ventral nasal concha of gnotibiotic pigs. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 168
3. Ackermann MR, de Bey MC, Register KB, Larson DJ, Kinyon JM. Tonsil and turbinate colonization by toxigenic and non-toxigenic strains of *Pasteurella multocida* in conventionally-raised Iowa swine. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 162
4. Ackermann M, Register K, Gentry-Weeks C, Gwaltney S, Magyar T. Virulence of two strains of *Bordetella bronchiseptica* in colostrum-deprived, cesarean-derived pigs. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 252
5. Alt M, Bechmann G, Schöss P. Vergleich von EBL-Zellen und ELISA in der kulturellen und serologischen Diagnostik der Rhinitis atrophicans des Schweines. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1993; 100 (3): 99 – 102
6. Alt M, Meyer K. Erfahrungen mit der bakteriologisch und serologisch gestützten R. a.-Sanierung. Coll. vet. 1996; XXVI: 50 – 3
7. Alt M, Meyer K, Schöss P. Eradication of Progressive atrophic rhinitis by bacteriological and serological examination. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 246
8. Amaas SF, Clark LK, van Alstine WG, Bowersock T, Murphy D, Know KE, et al. Interactions of infection and immunity of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida* in swine. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 158
9. Amigot JA, Torremorell M, Pijoan C. Evaluation of techniques for the detection of toxigenic *Pasteurella multocida* strains from pigs. J. Vet. Diagn. Invest. 1998; 10: 169 – 73
10. Andresen LO, Petersen SK, Christiansen C, Nielsen JP. Studies on the location of the *Pasteurella multocida* toxin gen *tox*A, Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 60
11. Avril JL, Donnio PY, Pouedras P. Selective medium for *Pasteurella multocida* and its use to detect oropharyngeal carriage in pig breeders. J. Clin. Microbiol. 1990; 28 (6): 1438 – 40

12. Awad-Masalmeh M, Kourouma G, Köfer J, Schuh M. Investigations on *Pasteurella multocida* lesions of slaughter swine suffering from chronic respiratory disorders. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 172
13. Bäckström L, Chung WB, Collins MT, Ose E. Efficacy of Tilmicosin for control of Atrophic Rhinitis. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 161
14. Bækbo P. Growth reduction in pulmonary infection with toxigenic *Pasteurella multocida*. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 144
15. Ballinger U. Felduntersuchungen zum Einfluss von Hygieneprogrammen in Abferkelställen und Ställen für Absetzferkel sowie von endogenen und exogenen Wirkgrößen auf die Morbiditätsraten der Enzootischen Pneumonie (EP) und der Rhinitis atrophicans suum (R. a.). [Diss. med vet.], Leipzig: Univ. Leipzig; 1992.
16. Barfod K, Sørensen V, Nielsen JP. Methods of evaluation of the degree of Atrophic Rhinitis. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 70
17. Bartussek H, Egerbacher M, Flatscher J, Gasteiner J, Hausleitner A, Schuh M, et al.; Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft. Die Auswirkung schlechter Stallluft auf Gesundheit und Leistung von Mastschweinen. Projekt, A-8952 Irdning, 2001.
18. Bechmann G, Schöss P. Nachweis neutralisierender Antikörper gegen *Pasteurella multocida*-Toxin bei Schweinen mit Rhinitis atrophicans. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1991; 98: 310 – 2
19. Bechmann G, Schimmel D, Erler W, Schöss P. Vaccination trials for protection against *Pasteurella pneumonia*. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 177
20. Bercovich Z, de Jong M. Brachygnathia superior als klinisch kenmerk van artrofische rhinitis bij big op een leeftijd van 8 weken. Tijdschr. Diergeneesk. 1976; 101 (18): 1011 – 22
21. Berkovich Z. De invloed van besmetting en leeftijd op het ontstaan van atrofische rhinitis. Tijdschr. Diergeneesk. 1978; 103 (16): 833 – 40
22. Binder S, Lackhoff A, Le NB, Berner H, Bauer J. Efficacy of food-medication with Tilmicosin in respiratory disorders of swine. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 162
23. Blaha T. Erfassung morphologisch-anatomischer Organbefunde am Schlachthof - 1. Ansatz zu neuen Wegen bei der Wahrnehmung der Verantwortung für Verbraucherschutz und Tiergesundheit. Fleischwirtschaft 1993; 73 (8): 877 – 81
24. Bollwahn W. Forensische Aspekte der Rhinitis atrophicans der Schweine. Tierärztl. Prax. 1988; (Suppl 3): 59 – 61

25. Bong HK, Ryun-Bin T, In-Ho J. Clinical and bacteriological studies on Atrophic rhinitis of pigs in Korea. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 176
26. Bording Jensen A. Immunologische Verhältnisse bei natürlicher Infektion und Impfung. Prakt. Tierarzt 1990; 7: 23 – 5
27. Bording A, Petersen S, Foged NT. Immunological and pathological characterization of the *Pasteurella multocida* toxin and its derivatives. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 62
28. Bording A, Nymark K, Smidt E, Hjalager B. Field studies with a new, genetically engineered vaccine against Progressive atrophic rhinitis. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 179
29. Breuer J, Schimmelpfennig H. Skin-testing for *P. multocida* antitoxin antibodies in breeding herds. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 51
30. Brown WR, Krook L, Pound WG. Atrophic rhinitis in swine - etiology, pathogenesis and prophylaxis. The Cornell Veterinarian 1966; (Suppl. 1Vol. LVI)
31. Byung CA, Bong HK. Toxigenicity and capsular serotypes of *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic lungs of slaughter pigs. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 165
32. Calsamiglia M, Carvalho LF, Pijoan C. DNA fingerprinting of inoculated and recovered strains of *Pasteurella multocida*. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 241
33. Cameron RD, Giles CJ, Smith IM. The prevalence of *Bordetella bronchiseptica* and turbinate (conchial) atrophy in English pig herds in 1978 – 79. Vet. Rec. 1980; 107: 146 – 9
34. Carter GR. Studies on *Pasteurella multocida*. I.a. Hemagglutination test for the identification of serological types. Am. J. Vet. Res. 1955; 16: 481 – 4
35. Carter GR, Subronto P. Identification of type D strains of *Pasteurella multocida* with acriflavine. Am. J. Vet. Res. 1973; 3: 293 – 4
36. Carter GR, Rundell SW. Identification of type A strains of *P. multocida* using staphylococcal hyaluronidase. Vet. Rec. 1975; 96: 343
37. Chanter N, Goodwin RF, Rutter JM. Comparison of methods for sampling and isolation of toxigenic *Pasteurella multocida* from nasal cavity of pigs. Res. Vet. Sci. 1989; 47; 355 – 8
38. Chanter N, Rutter JM. The role of the osteolytic toxin in colonisation by toxigenic *Pasteurella multocida*. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 67

39. Chao-Chi W, Liu C-I, HSU T-H, Shen J-H. The experimental study on Atrophic rhinitis in pigs induced by toxin related with *Pasteurella multocida* type D. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 171
40. Chen HI, Hulten K, Clarridge III JE. Taxonomic subgroups of *Pasteurella multocida* correlate with clinical presentation. J. Clin. Microbiol. 2002; 40 (5): 3438 – 41
41. Cheville NF, Rimler RB, Thurston JR. A toxin from *Pasteurella multocida* type D causes acute hepatic necrosis in pigs. Vet. Pathol. 1988; 25: 518 – 20
42. Chung WB, Bäckström L, Collins MT. Swine pneumonic Pasteurellosis studies. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 160
43. Collins MT, Bäckström LR, Brim TA. Turbinate perimeter ratio as an indicator of conchal atrophy for diagnosis of atrophic rhinitis in pigs. Am. J. Vet. Res. 1989; 50 (3), 421 – 4
44. Corboz L, Buergi E, Gruber H, Gysling P. Drug resistance of *Pasteurella multocida* strains isolated in Switzerland from the respiratory tract of pigs. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 181
45. Cross RF, Claflin RM. *Bordetella bronchiseptica*-induced porcine Atrophic rhinitis. J. Am. Vet. med. Ass. 1962; 141 (12): 1467 – 8
46. de Jong MF, Oosterwoud RA. Behandling van de jonge big met oxytetracycline-hcl ter preventie van atrofische rhinitis. Tijdschr. Diergeneesk. 1977 ; 102 (4): 266 – 73
47. de Jong MF. Enkele aspecten van het onderzoek betreffende Atrofische rhinitis bij het varken. Tijdschr. Diergeneesk. 1980; 105 (17): 711 – 4
48. de Jong MF, Borst GH. Selective medium for the isolation of *P. multocida* and *B. bronchiseptica*. Vet. Rec. 1985; 9: 167
49. de Jong MF, Akkermans JP. Investigation into the pathogenesis of Atrophic rhinitis in pigs - I. Atrophic rhinitis caused by *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* and the meaning of a thermolabile toxin of *P. multocida*. Vet. Quart. 1986; 8 (3): 204 – 14
50. de Jong MF, Nielsen JP. Definition of progressive atrophic rhinitis. Vet. Rec. 1990; 27: 93
51. de Jong MF. Rhinitis atrophicans: Problematik der Diagnostik. Coll. vet. 1993; XXIV: 82
52. de Jong MF, Braamskamp J. Atrophic Rhinitis-herdmonitoring; the investigation of toxigenic *Pasteurella multocida* from the tonsils of culled sows collected in the slaughterhouse. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 161
53. de Jong MF, Kamp E, Bokken G. Selecting sows harbouring AR toxigenic *Pasteurella multocida* by a PCR-test to eliminate progressive AR in a breeding herd. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 167

54. de Jong MF, Kamp E, van der Schoot A, von Banniseth T. Elimination of AR toxinogenic *Pasteurella* from infected sow herds by a combination of art vaccination and testing sows with a PCR and ELISA test. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 245
55. de Jong MF. Bekämpfung der Rhinitis atrophicans in den Niederlanden. 2. Leipziger Tierärztetag; 2002 Feb 19 – 21; Leipzig, Germany
56. Descamps J, Charlier P, Jolie R, de Roose P. Efficacy of a vaccine against Atrophic rhinitis under field conditions. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 69
57. Dirks C, Schöss P, Schimmelpfennig H. Untersuchungen zur Ätiologie der Rhinitis atrophicans des Schweines. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1973; 80: 341 – 68
58. Done JT. Porcine atrophic rhinitis: Snout radiography as an aid to diagnosis and detection of the disease. Vet. Rec. 1976; 98: 23 – 8
59. Done JT. Facial deformity in pigs. Vet. Ann. 1977; 17: 96 – 102
60. Done JT. Porcine atrophic rhinitis - an update. Vet. Ann. 1985; 25: 180 – 91
61. Donnio P-Y, Allardet-Servent A, Perrin M, Escande F, Avril J-L. Charakterization of dermonecrotic toxin-producing strains of *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* isolated from man and swine. J. Med. Microbiol. 1999; 48: 125 – 31
62. Doster AR, Frantz JC, Brown AL, Husman BR, Hogg A. Effects of *Pasteurella multocida* serotype D dermonecrotic toxin in swine. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 72
63. Doughty SW, Ruffolo CR, Adler B. The type 4 fimbrial subunit gene of *Pasteurella multocida*. Vet. Microbiol. 2000; 72: 79 – 90
64. Douglas RG, Ripley PH. Sneeze counts as a diagnostic aid in pig production. Vet. Rec. 1984; 114: 321 – 2
65. Dugal F, Jaques M. Enhanced adherence of *Pasteurella multocida* to porcine tracheal rings pre-infected with *Bordetella bronchiseptica*. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 73
66. Duncan JR, Ross RF, Switzer JP, Ramsey FK. Pathology of experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in swine: Atrophic rhinitis. Am. J. Vet. Res. 1966; 27 (117): 457 – 66
67. Edington N, Smith IM, Plowright W, Watt RG. Relationship of porcine cytomegalovirus and *B. bronchiseptica* to atrophic rhinitis in gnotobiotic piglets. Vet. Rec. 1976; 98: 42 – 5

68. Eger S. Programm des Tiergesundheitsdienstes Thüringen e. V. zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Progressive Rhinitis atrophicans, PRa) in den Schweinezuchtbeständen. Thüringer Referatenachmittage; 2004 Oct 13; Bad Langensalza, Germany
69. Eger S, Amthor A. Aktuelle Untersuchungen zum Vorkommen bakterieller Erreger von Atemwegserkrankungen in Thüringer Schweinebeständen. Thüringer Referatenachmittage; 2004 Oct 13; Bad Langensalza, Germany
70. Ehser U, Mehlhorn G, Mietke H. Untersuchungen zum Einfluss eines Bordetellen-Lebendimpfstoffes auf das Auftreten und die Ausprägung der Rhinitis atrophicans suum sowie den aerogenen Infektionsdruck durch Feldstämme des Erregers. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1993; 100 (9): 355 – 8
71. Elias B, Krüger M, Gerely P, Voets R. Bordetella bronchiseptica and Pasteurella multocida infection of Hungarian and Dutch pig herds. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 159
72. Elling F, Pedersen KB. The pathogenesis of persistent turbinate atrophy induce by toxigenic Pasteurella multocida in pigs. Vet. Pathol. 1985; 22: 469 – 74
73. Erler W, Schimmel D. On the importance of the dermonecrotic toxin of Pasteurella multocida for the pathogenesis of pneumonia in pigs. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 155
74. Erler W, Hänel I, Hotzel H, Müller W, Schimmel D. Nachweis toxinbildender Stämme von Pasteurella multocida - ein Vergleich von Methoden. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1993; 106: 194 – 7
75. Eurell TE, Eurell JC, Bane DP, Hall WF. Serum haptoglobin is associated with experimentally-induced Atrophic rhinitis in swine. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 65
76. Farrington DO, Switzer WP. Evaluation of nasal culturing procedures for the control of Atrophic rhinitis caused by Bordetella bronchiseptica in swine. J. Am. Vet. med. Ass. 1977; 170 (1): 34 – 5
77. Flaus L, Tan AT. Synergy study between Lincomycin and Oxytetracycline and between Lincomycin and Chlortetracycline. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 186
78. Flechtner O.; SGD - SSP - Schweiz, Verband Schweinegesundheitsdienst CH. Die Flächensanierung und ihre Durchführung - Ein Handbuch für SGD-Berater, Tierärzte und Studierende der Veterinärmedizin. Allemend 6264 Sempach, 2002.
79. Foged NT, Nielsen JP, Pedersen KB. Differentiation of toxigenic from nontoxigenic isolates of Pasteurella multocida by Enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 1988; 26 (7): 1419 – 20

80. Foged NT, Nielsen JP, Jorsal SE. Protection against Progressive atrophic rhinitis by vaccination with *Pasteurella multocida* toxin purified by monoclonal antibodies. *Vet. Rec.* 1989; 125: 7 – 11
81. Foged NT, Nielsen JP, Barfod K. The use of ELISA-Determination of *Pasteurella multocida* toxin antibodies in the control of Progressive atrophic rhinitis. *Proceedings of the 11th IPVS Congress*; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 49
82. Frandsen PL, Foged NT, Petersen SK. Charakterization of toxin from different *Pasteurella multocida* strains. *Proceedings of the 11th IPVS Congress*; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 59
83. Frymus T, Bielecki W, Jakubowski T. Studies on the transmission of natural Atrophic rhinitis from rabbits to piglets. *Proceedings of the 12th IPVS Congress*; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 174
84. Frymus T, Leśniewski SF, Żurawski A. Possible sources of Progressiv atrophic rhinitis: Toxigenic *Pasteurella* strains in species other than pig. *Proceedings of the 14th IPVS Congress*; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 247
85. Földner M, Horsch F. Epizootiologie der *Bordetella bronchiseptica*-Infektionen in großen Schweinebeständen. *Mh. Vet.-med.* 1991; 46: 740 – 3
86. Gagné S, Martineau-Doizé B. Nasal epithelial changes induced in piglets by acetic acid and by *Bordetella bronchiseptica*. *J. Comp. Path.* 1993; 109: 71 – 81
87. Geiger JO, Harries DL, Edgerton SL, Jackson W, Kinyon JM. Elimination of Atrophic Rhinitis utilizing Isoweatsm three-site production. *Proceedings of the 12th IPVS Congress*; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 166
88. Giles CJ, Smith IM, Baskerville AJ, Brothwell E. Clinical bacteriological and epidemiological observations on infectious atrophic rhinitis of pigs in southern England. *Vet. Rec.* 1980; 106: 25 – 8
89. Glattleider L, Laval A, Espeisse O. Horizontal transmission of Atrophic rhinitis. *Proceedings of the 14th IPVS Congress*; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 251
90. Glawischnig E, Buchner A, Böckmann J. Field evaluation of a swine Progressive atrophic rhinitis vaccine containing *Pasteurella multocida* toxoid. *Proceeding of the 12th IPVS Congress*; 1992 Aug 17 - 20; Den Haag, Netherlands. p. 163
91. Gois M, Farrington DO, Barnes HJ, Ross RF. Long-acting oxytetracycline for control of induced *Pasteurella multocida* rhinitis in swine. *J. Am. Vet. med. Ass.* 1983a; 183 (4): 445 – 7
92. Gois M, Barnes HJ, Ross RF. Potentiation of turbinate atrophy in pigs by long-term nasal colonization with *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.* 1983b; 44 (3), 372 – 8

93. Goodwin RF. Monitoring for atrophic rhinitis: The problem of higher snout scores. Vet. Rec. 1988; 123: 566 – 8
94. Goodwin RF, Chanter N, Rutter JM. Screening pig herds for toxigenic *Pasteurella multocida* an turbinate damage in a health scheme for atropic rhinitis. Vet. Rec. 1990a; 127: 83 – 6
95. Goodwin RF, Chanter N, Rutter JM. Detection and distribution of toxigenic *Pasteurella multocida* in pig herds with different degrees of atrophic rhinitis. Vet. Rec. 1990b; 126: 452 – 6
96. Grund S, Schöss P, Thiesen B. *Pasteurella multocida* (Typ D und A) und Rhinitis atrophicans des Schweines - Hämagglutination, Fimbrien sowie Adhäsion in vitro an Nasenschleimhaut von Schweinefeten. Berl. Münch Tierärztl. Wschr. 1990; 103, 365 – 71
97. Hannan PC, O’Hanlon PJ, Rogers NH. In vitro evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary Mycoplasmas and porcine respiratory bacterial pathogens. Res. Vet. Sci. 1989; 46: 202 – 11
98. Heer A, Tinius H-G, Mickwitz GV. Untersuchungen zum Effekt eines kombinierten Impf- und Behandlungsprogramms in Ferkelerzeugerbetrieben mit Rhinitis atrophicans mit besonderer Berücksichtigung fehlerhafter Produktionsbedingungen (Hygienestatus, Luftraum / Tier). Tierärztl. Umschau 1995; 50: 290 – 8
99. Heyne H.; Ministerium für Landwirtschaft und Naturschutz Mecklenburg-Vorpommern. Schweinepestgeschehen in Mecklenburg-Vorpommern bei Haus- und Wildschweinen in den Jahren 1993 – 1996. Jagdbericht für Mecklenburg-Vorpommern, Jagdjahr 1995/96, D-19061 Schwerin / Meckl., 1997. p. 48 – 54
100. Heyne H, Kiupel H.; Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Friedrich-Loeffler-Institute Insel Riems. Verlauf und aktuelle Situation der klassischen Schweinepest beim Schwarzwild in Mecklenburg-Vorpmern von 1993 bis 1997. Bekämpfung der KSP beim Schwarzwild. Proceedings of the 2. Riemser Meeting zur oralen Immunisierung gegen KSP; 1997 Jun 25 – 26; Friedrich-Loeffler-Institute, D-17493 Hansestadt Greifswald - Insel Riems, Germany
101. Hotzel H, Erler W, Schimmel D. Nachweis des Dermonekrotoxin-Gens in *Pasteurella multocida*-Stämmen mittels Polymerase Kettenreaktion. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1997; 110: 139 – 42
102. Hunt ML, Adler B, Townsend KM. The molecular biology of *Pasteurella multocida*. Vet. Microbiol. 2000; 72: 3 – 25
103. Iben B. 175 Jahre Schnüffelkrankheit beim Schwein - 1. Mitteilung. Großtierpraxis 2005; 3: 12 – 20
104. Ikoma H. Control of Atrophic rhinitis with Enrofloxacin. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 170

105. Iordache A, Ungureanu C, Putsche R, Schimmel D. Empfehlungen zur Isolierung und Differenzierung von *Pasteurella multocida*. Arch. Exper. Vet. Med. 1980; Leipzig 34: 753 – 8
106. Iwamatsu S, Sawada T. Relationship between serotypes, dermonecrotic toxin production of *Pasteurella multocida* isolates and pneumonic lesions of porcine lung. Jpn. J. Vet. Sci. 1988; 50 (6): 1200 – 6
107. Jolie R, de Roose P, Tuytens N. Diagnosis of Atrophic rhinitis by computerized tomography: A preliminary report. Vet. Rec. 1990; 126: 591 – 4
108. Jolie R, Thacker B. Comparison of Atrophic Rhinitis morphometric measurements and macroscopic grades of nasal cross sections on coputerized tomography scans in pigs. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 53
109. Kaden V, Kosmidou A, Kramer M, Moenning V, Thiel HJ, Ahl R, et al.; Zentralstelle für Agrardokumentation und -information. Die Schweinepest in Deutschland in den Jahren 1992 und 1993. Forschungsreport Ernährung, Landwirtschaft, Forsten Nr. 9; 1994: 25 – 8
110. Kamp EM, Ter Laak EA, de Jong MF. Atypical pasteurella strains producing a toxin similar to the dermonecrotic toxin of *Pasteurella multocida* subspecies *multocida*. Vet. Rec. 1990; 126: 434 – 7
111. Kamps AM, Buys WE, Kamp EM, Smits MA. Spezificity of DNA probes for the detection of toxigenic *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* strains. J. Clin. Microbiol. 1990; 28: 1858 – 61
112. Kavanagh NT. Isolation of toxigenic *P. multocida* type D from pigs in a herd free from Progressive atrophic rhinitis in Ireland. Vet. Rec. 1994; 134: 218 – 9
113. Kielstein P, Bocklisch H, Orthey G. *Pasteurella multocida* als Erreger der infektiösen atrophischen Rhinitis des Schweines Mh. Vet.-Med. 1986; 41: 46 – 50
114. Kovács F, Magyar T. Evaluation of Ingelvac AR 4 vaccine under field condition. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 254
115. Lax AJ, Chanter N. Cloning of the toxin gene from *Pasteurella multocida* and its role in Atrophic Rhinitis. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 61
116. Leeb B. Programme des ÖTGD zur Überwachung von PRRS und PAR in den Schweinezuchtbetrieben. Proceedings of the Internationale Fachtagung der Schweinegesundheitsdienste / Epizootiologischen Dienste / Tierseuchenbekämpfungsdienste im deutschsprachigen Raum; 2007 May 07 – 09; Lochem, Netherlands. p. 14
117. Lesniewski SF, Frymus T, Bielecki W. Atrophic Rhinitis-like lesions caused by the dermonecrotic toxin of *Pasteurella multocida* in species other than swine. Experimental studies in sheep. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 248

118. Lichtensteiger CA, Steenbergen SM, Lee RM, Polson DD, Vimr ER. Direct PCR analysis for toxigenic *Pasteurella multocida*. J. Clin. Microbiol. 1996; 34 (12): 3035 – 9
119. Lieschke B, Hoy S, Mehlhorn G, Warnecke H-W. Auswirkungen der Rhinitis atrophicans suum auf die Schlachtleistung gleichaltriger Mastschweine unter Berücksichtigung entzündlicher Lungenveränderungen. Mh. Vet.-med. 1989; 44: 11 – 6
120. Lieschke B, Hoy S, Koban I. Untersuchungen zum Vorkommen und zu den Auswirkungen der Rhinitis atrophicans (R. a.) auf die Mast- und Schlachtleistungen von Schweinen. Mh. Vet.-med. 1991; 46: 706 – 10
121. Linz U, Degenhardt H. Die Polymerase-Kettenreaktion - Ein Überblick. Naturwissenschaften 1990; 77: 515 – 30
122. Liu CI, Peng MS. Correlation between the severity of swine Atrophic rhinitis in farms and infections of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida*. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 71
123. Luksch U, Müller M, Brem G. Verfahrensspezifische Anforderungen zum Nachweis von toxinbildenden *Pasteurella multocida*-Stämmen aus Schweinenasentupfern. DGtZ/GfT-Gemeinschaftstagung; 1999 Sep 15 – 16; Giessen, Germany
124. Magyar T, Chanter N, Lax AJ, Rutter JM, Hall GA. The pathogenesis of turbinate atrophy in pigs caused by *Bordetella bronchiseptica*. Vet. Microbiol. 1988; 18: 135 – 46
125. Magyar T, Rimler RB. Detection and enumeration of toxin-producing *Pasteurella multocida* with a colony-blot assay. J. Clin. Microbiol. 1991; 29 (7): 1328 – 32
126. Magyar T, Kovács F. Efficacy of a vaccine against combined infection with *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* in newborn piglets. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 253
127. Martelli P, Sala V, Pozzi P. Evaluation of a protocol to control a Progressive atrophic rhinitis outbreak. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 171
128. Martineau-Doizé B, Larochelle R, Boutin J, Martineau G-P. Atrophic rhinitis caused by *Pasteurella multocida* type D: morphometric analysis. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990a Jul 01 – 05, Lausanne, Swiss. p. 63
129. Martineau-Doizé B, Frantz JC, Martineau G-P. Cartilage and bone lesions: an explanation of the serverity of chonchae atrophy induced by *Pasteurella multocida*, type D dermonecrotxin. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990b Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 68
130. Martineau-Doizé B, Caya I, Gagné S, Jutras I, Dumas. Modifikations of the osteoclasts by type D *Pasteurella multocida* toxin. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 169

131. Martineau-Doizé B, Jutras I. Effects of *Pasteurella multocida* toxin on osteoclast formation in long-term culture of bone marrow cells. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 164
132. Martineau-Doizé B, Challier P, Dudet LI. Effects of *Pasteurella multocida* on cytoskeleton reorganization and dna-synthesis in different cell types. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 242
133. Matschullat G, Müller E, Mumme J, Ikes D. Nachweis toxinbildender Stämme von *Pasteurella multocida* in Nasen- und Tonsillentupfern, eine Möglichkeit zur Überwachung von Schweinezuchtbeständen auf Rhinitis atrophicans. Gleichzeitig ein Vergleich mit anderen Untersuchungsmethoden. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1994; 101: 27 – 30
134. Mattson S, Söderlind O. Detection of toxin-producing *Pasteurella multocida* strains in nasal swabs from pigs using an antitoxin-ELISA. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 79
135. Mattson S, Foged NT, Söderlind O. Evaluation of the 1-step DAKO PMT ELISA for detection of toxin-producing *Pasteurella multocida*. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 173
136. Mehlhorn G. Lehrbuch der Tierhygiene. Leipzig: Gustav Fischer, Jena; 1979.
137. Meyeringh H, Dirks C, Schöss P, Schimmelpfennig H. Untersuchungen zur Ätiologie der Rhinitis atrophicans des Schweines, 2. Mitteilung: Bestimmung der Kapselantigene von *P. multocida*-Kulturen, die aus an Rhinitis atrophicans erkrankten Schweinen isoliert wurden. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1977; 84: 266 – 8
138. Müller W, Dinter P-S. Die Überlebensfähigkeit von Pasteurellen in der Umwelt unter besonderer Berücksichtigung des luftgetragenen Zustands. Tierärztl. Prax. 1988; (Suppl. 3), 16–20
139. Müller E, Mumme J, Matschullat G, Ikes D, Frerking H. Zur Bedeutung blutserologischer Untersuchungen im Rahmen der Rhinitis atrophicans-Diagnostik. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1996; 103 (12): 513 – 6
140. Nagai S, Someno S, Yagihashi T. Differentiation of toxigenic from nontoxigenic isolates of *Pasteurella multocida* by polymerase chain reaction. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 163
141. Nakai T, Kume K, Yoshikawa H, Oyamada T, Yoshikawa T. Adherence of *Pasteurella multocida* or *Bordetella bronchiseptica* to swine nasal epithelial cell in vitro. Infect. Immun. 1988; 56, 234 – 40
142. Nielsen JP, Frederiksen W. Atrophic rhinitis in pigs caused by human isolate of toxigenic *Pasteurella multocida*. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 75

143. Nielsen JP, Foged NT. Duration of turbinate atrophy and growth retardation in piglets challenged with *Pasteurella multocida* toxin. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 154
144. Nielsen JP, Kolkmann P, Rosendahl S. Infection with toxigenic *Pasteurella multocida* and growth rate in a cohort of pigs. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 156
145. Nielsen JP, Rosendahl S. Ciliostasis in the pathogenesis of Progressive atrophic rhinitis. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 119
146. Nielsen U. The influence of herd epidemiological factors on Atrophic Rhinitis in pig herds in Denmark. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 64
147. Ono E, Koimaru H, Nakai T, Kume K. Effects of dermonecrotic toxin from *Bordetella bronchiseptica* or *Pasteurella multocida* on osteoblastic line cells. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 170
148. Ostle AG, Coyle D, Frank C, Kregness B, Rehder J, Welter M. Comparative evaluation of two commercial Atrophic rhinitis vaccines. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 169
149. Panin A, Dushuk R. Etiological structure and prophylaxis of Pasteurellosis in swine. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 529
150. Pedersen KB, Barfod K. Effect of vaccination of sows with *Bordetella bronchiseptica* on the incidence of Atrophic rhinitis in swine. Nord. Vet.-Med. 1977; 29, 369 – 75
151. Pedersen KB, Barfod K. The aetiological significance of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of swine. Nord. Vet.-Med. 1981; 33, 513 – 22
152. Pedersen KB, Barfod K. Effect on the incidence of Atrophic rhinitis of vaccination of sows with a vaccine containing *Pasteurella multocida* toxin. Nord. Vet.-Med. 1982; 34: 293 – 302
153. Pedersen KB, Nielsen JP, Foged NT, Elling F, Nielsen NC, Willeberg P. Atrophic rhinitis in pigs: proposal for a revised definition. Vet. Rec. 1988; 20: 190 – 1
154. Pejsak Z, Hogg A, Foreman K, Wasińska B. The effect of Terramycin LA in combination with a *Bordetella* / *Pasteurella* vaccine in controlling Atrophic rhinitis in swine. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990a Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 76
155. Pejsak Z, Wasińska B, Lipowski A, Sadoch L. An evaluation of some selected chemotherapeutics in the treatment of Atrophic rhinitis. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990b Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 77
156. Pejsak Z, Hogg A, Wasińska B, Foreman K. Comparison of six different regimes for the control of Atrophic Rhinitis in swine. J. Vet. Med. B. 1990c; 37: 593 – 8

157. Pennings AM, Storm PK. A test in vero cell monolayers for toxin produktion by strains of *Pasteurella multocida* isolated from pigs suspected of having Atrophic rhinitis. Vet. Microbiol. 1984; 9: 503 – 8
158. Penny RH. The influence of management changes on the disease picture in pigs. Vet. ann. 1977; 17: 111 – 22
159. Perrin J, Nicolet J. An antibody susceptibility test for *Pasteurella multocida* with the Cobas micro system. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 170
160. Peters T. Schnüffelkrankheit – aus der Impfung aussteigen. top agrar 2002; 7: 14 – 6
161. Petersen SK, Bording A, Foged NT, Frandsen PL, Nielsen JP, Sørensen V. Development of a recombinant vaccine against Progressive atrophic rhinitis. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 54
162. Piffer IA, Castro AF, Brito JR. Association of toxigenic type D *P. multocida* (Pm) to the upper respiratory tract of swine. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 172
163. Pijpers A, van Klingeren B, Schoevers EJ, Verheijden JH, van Miert AS. In vitro activity of five tetracyclines and some other antimicrobial agents against four porcine respiratory tract pathogens. J. vet. Pharmacol. Therap. 1989; 12: 267 – 76
164. Plonait H. Sanierung von Schweinezuchtbeständen – Methoden, Zuverlässigkeit, Anwendbarkeit. Tierärztl. Umschau 1990; 45: 521 – 6
165. Prevost P, Reynaud G, Lacoste F, Calmels D, Prats A, Stellmann C. Evaluation of the efficacy of a *B. bronchiseptica* / *P. multocida* type D bacterin toxoid vaccine against Atrophic rhinitis. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 58
166. Rathmann E, Thom B. PRA-Bekämpfungsprogramm für Mecklenburg-Vorpommern. Beratung der Schweinegesundheitsdienste der neuen Bundesländer; 2002 May 07 – 08; D-06786 Wörlitz, Germany
167. Rautiainen E, Laine T. The presence of toxic *Pasteurella multocida* bacteria in finnish breeding herds. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 244
168. Rozengurt E, Higgins T, Chanter N, Lax AJ, Staddon JM. *Pasteurella multocida* toxin is a novel potent mitogen for cultured fibroblasts. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 66
169. Rúbies X, Casal J, Fernandez J, Pijoan C. Transmission of *Pasteurella multocida* clones in a swine pyramid structure. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 243

170. Rutter JM. Quantitative observations on *Bordetella bronchiseptica* infection in atrophic rhinitis of pigs. Vet. Rec. 1981; 108: 451 – 4
171. Rutter JM, Rojas X. Atrophic rhinitis in gnotobiotic piglets: differences in the pathogenicity of *Pasteurella multocida* in combined infections with *Bordetella bronchiseptica*. Vet. Rec. 1982; 110: 531 – 5
172. Sachs L. Die Häufigkeit von Ereignissen. In: Angewandte Statistik, Anwendung statistischer Methoden. 2nd ed. Berlin: Springer Verlag, 1992. p. 432 – 45
173. Saliou A. Die Tenazität von *Pasteurella multocida* im künstlich kontaminierten Staub aus Schweineställen. [Diss. med vet.], Leipzig: Univ. Leipzig; 1987.
174. Schimmel D. Pasteurellose des Schweines. In: Beer J, editor. Infektionskrankheiten der Haustiere. 3th ed. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1987. p. 581 – 2
175. Schimmel D; Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes (Robert von Ostertag-Institut), Bereich Jena. AVID (Arbeitsanweisung veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik) I/1992 - *Pasteurella multocida*. O-6909 Jena, 1992a.
176. Schimmel D. Pasteurelleninfektionen beim Schwein. Coll. vet. 1992b; XXIII: 75 – 6
177. Schimmel D, Erler W, Hotzel H, Jacob B, Putsche R. Zur Bedeutung des Ribotyping von *Pasteurella multocida*. Tierärztl. Umschau 1997; 52: 614 – 6
178. Schnüll F. PAR-Bekämpfungsverfahren des SGD Bayern - Sanierung eines geschlossenen Bestandes. Tagung der Schweinegesundheitsdienste / Epizootiologischen Dienste / Tierseuchenbekämpfungsdienste im deutschsprachigen Raum; 2001 May 21 – 23; D-06110 Halle (Saale), Germany
179. Schönmutz G, Nagel E, Seiffert H. Zur Selektionswirkung gegen die Rhinitis atrophicans suum unter Verwendung der Röntgendiagnostik. Mh. Vet.-med. 1968; 23: 335 – 41
180. Schöss P. Schnüffelkrankheit bei Schweinen. Landwirtschaftsblatt Weser-Ems; 1966 Aug 12; 32: Sonderdruck
181. Schöss P. Enzootische Erkrankungen der Atmungsorgane beim Schwein und ihre Bekämpfungsmöglichkeiten. Der praktische Tierarzt 1977; 1: 38 – 41
182. Schöss P, Oberwalder U. Weitere Untersuchungen zur Ätiologie der Rhinitis atrophicans des Schweines, 1. Mitteilung: Bakteriologische Untersuchungen von Nasentupferproben. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1978; 91: 245 – 50
183. Schöss P, Kayser G, Jahnke F, Fedke P, Dahms L, Dittmar H-J. Rhinitis atrophicans der Schweine: Ergebnisse der Bestandssanierungen im Weser-Ems-Gebiet seit 1971. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1980; 87 (12): 483 – 6

184. Schöss P. Die Rhinitis atrophicans des Schweines - eine Faktorenkrankheit? Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1989; 102: 387 – 9
185. Schöss P. Rückblick auf die Forschung über die Rhinitis atrophicans in den letzten 35 Jahren. Tierärztl. Umschau 2001; 56: 314 – 6
186. Seiffert H. Experimentelle Untersuchungen über Verbreitung und Vererbung der Rhinitis atrophicans beim Schwein. [Diss. med vet.], Leipzig: Univ. Leipzig; 1970.
187. Solinac T, le Bris E. Use of ceftiofur in two outbreaks of Inclusion body rhinitis (Porcine cytomegalovirus) complicated by *Pasteurella multocida* in piglets. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 666
188. Steinmetz U, Mehlhorn G, Rudkowski A, Schleitzer G. Der Einfluss einer Einphasenhaltung von Mastschweinen auf die Morbiditätsraten an Enzootischer Pneumonie und Rhinitis atrophicans. Tierzucht 1991; 45 (11): 488 – 9
189. Taneda A, Futo S, Mitsuse S, Seto Y, Uruno K, Okada M, Sakano T. Oligodeoxynucleotide probes to detect *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 168
190. Tischer H, Weissenborn B; Mitteldeutscher Schweinezuchtverband. Leicoma – 2004: Tabellen zur züchterischen Entwicklung der Rasse im Jahr 2003. Zuchtreport 2003.
191. Townsend KM, Hanh TX, O'Boyle D, Wilkie I, Phan TT, Wiewardana TG, et al. PCR detection and analysis of *Pasteurella multocida* from the tonsils of slaughtered pigs in Vietnam. Vet. Microbiol. 2000; 72, 69 – 78
192. Treu H, Nieders ML; Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Friedrich-Loeffler-Institute Insel Riems. Zur Situation der KSP beim Schwarzwild in Niedersachsen von 1993 – 1997. Bekämpfung der KSP beim Schwarzwild. Proceedings of the 2. Riemser Meeting zur oralen Immunisierung gegen KSP; 1997 Jun 25 – 26; Friedrich-Loeffler-Institute, D-17493 Hansestadt Greifswald - Insel Riems, Germany
193. Trigo E, Reese L, Simonson R. Protection of piglets against Atrophic rhinitis induced by the toxin of *Pasteurella multocida*. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 164
194. Udovičić I, Bilić V, Valpotić I, Vrbanc I, Laušin M. The prevention of Atrophic Rhinitis in swine by vaccination with Rhinogen[®] CTE 5000. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 255
195. Ushijima T, Kawai T, Yamamoto K, Ginnaga A, Fujikawa H. Drug resistance and R plasmids in *Pasteurella multocida* isolated from nasal cavities of swine in Japan. Proceedings of the 14th IPVS Congress; 1996 Jul 07 – 10; Bologna, Italy. p. 249

196. van Aken D, Geerts P, de Roose P. Atrophic Rhinitis in fattening swine in Luzon, Philippines. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 175
197. van Diemen PM, de Jong MF, Rijke E. A dose-response model to induce subclinical Atrophic Rhinitis in pigs by intranasal administration of *Pasteurella multocida* toxin. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992a Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 167
198. van Diemen PM, de Vries Reilingh G, Rijke E, Parmentier HK. Studies in conventional piglets on the immunity-initiating characteristics of *Pasteurella multocida* derived toxoid. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992b Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 178
199. van Diemen PM, de Vries Reilingh G, Noordhuizen JP, Parmentier HK. Effect of *Pasteurella multocida*-toxin on the immune system of piglets. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 120
200. Voets MT. Evaluation of the challenge model to test A. r. vaccines. Proceedings of the 11th IPVS Congress; 1990 Jul 01 – 05; Lausanne, Swiss. p. 56
201. Voets MT, Kersten A, de Ree JM, Crauwels P, Stuurman D. Efficacy and safety of an experimental A.R.-vaccine under controlled conditions. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994 Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 124
202. Wallgren P, Mattson S, Rabe J, Lindblad M, Molander B, Wierup M. Age distribution of pigs carrying toxin-producing *Pasteurella multocida* in herds affected with atrophic Rhinitis. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994a Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 122
203. Wallgren P, Mattson S, Stampe M, Molander B, Lindblad M, Wierup M. Control of infections with toxin-producing *Pasteurella multocida* in herds affected with atrophic Rhinitis. Proceedings of the 13th IPVS Congress; 1994b Jun 26 – 30; Bangkok, Thailand. p. 123
204. Werner Tutschku M, Schuh M, Awad-Masalmeh M, Krassnig G, Schweigardt H, Truschner K. Klinische und mikrobiologische Untersuchungen über die Rhinitis atrophicans in oberösterreichischen Schweinebeständen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1997; 104 (9): 344 – 9
205. Wiesner E, Ribbeck R, editors. Wörterbuch der Veterinärmedizin. 2nd ed. Jena: Gustav Fischer; 1983.
206. Zhao G, Pijoan C, Murtaugh MP. Epidemiology of *Pasteurella multocida* in a farrow-to-finish swine herd. Proceedings of the 12th IPVS Congress; 1992 Aug 17 – 20; Den Haag, Netherlands. p. 157

Gesetze, Verordnungen, Satzungen, Richtlinien, Programme

1. Anon. Tierseuchengesetz (TierSG) vom 22. Jun. 2004. BGBl. I Nr. 29 (25. Jun. 2004) S. 1261, zuletzt geändert am 13. Dez. 2007. BGBl. I Nr. 65 (20. Dez. 2007) S. 2930

2. Anon. Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten vom 11. Apr. 2001. BGBl. I Nr. 16 (20. Apr. 2001) S. 540, zuletzt geändert am 20. Dez. 2005. BGBl. I Nr. 74 (23. Dez. 2005) S. 3499
3. Anon. Verordnung über hygienische Anforderungen beim Halten von Schweinen (Schweinehaltungshygieneverordnung - SchHaltHygV) vom 7. Jun. 1999. BGBl. I Nr. 29 (1. Jun. 1999) S. 1252
4. Anon. Richtlinie für das Verfahren zur Anerkennung von Schweinebeständen als amtlich kontrollierte Bestände mit anerkanntem Hygieneprogramm (Richtlinie Hygieneprogramm Schwein) vom 17. März 1998. AmtsBl. M-V Nr. 16 (6. Apr. 1998) S. 406
5. Anon. Richtlinie für das Verfahren zur Anerkennung von Schweine haltenden Betrieben mit amtlich kontrollierten Beständen und einem anerkannten Hygieneprogramm (Richtlinie Hygieneprogramm Schwein) vom 25. Juni 2003. Amtsbl. M-V Nr. 32 (21. Jul. 2003) S. 806
6. Anon. Satzung zur Gewährung von Beihilfen bei der Bekämpfung der Schnüffelkrankheit der Schweine (Rhinitis atrophicans - R. a.) vom 26. Okt. 1987 i. d. F. der Bek. d. ML vom 4. Feb. 1988. Nds. MBl. (11. Mrz. 1988) S. 248
7. Niedersächsische Tierseuchenkasse (TSK Nds). Richtlinie für die Durchführung des freiwilligen Verfahrens zur Verhütung und Bekämpfung der Schnüffelkrankheit der Schweine (Rhinitis atrophicans, R. a.). 1987
8. Schweinegesundheitsdienst der Tierseuchenkasse von Mecklenburg-Vorpommern (SGD TSK M-V). Programm zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Rhinitis atrophicans, R. a.) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern. 1998
9. Schweinegesundheitsdienst der Tierseuchenkasse von Mecklenburg-Vorpommern (SGD TSK M-V). Programm zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Progressive Rhinitis atrophicans, PRa) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern. 2001

9.1 Verzeichnis der Tabellen

	Seite
Tabelle 1: Morphologische Parameter und Pmt-Nachweise in verschiedenen Altersgruppen aus 5 Beständen (nach GOODWIN et al. 1990b)	20
Tabelle 2: Stallbauten der Anlage, ihre Raumaufteilungen und Ausrüstungen	48
Tabelle 3: Immunprophylaxe im Versuchsbestand	51
Tabelle 4: Perioden, Zwischenintervalle und Anzahlen beprobter Tiere der Gesamtbestands- und Wiederholungsuntersuchungen in der Phase III	55
Tabelle 5: Zeitphasen des Sanierungsversuchs in der Übersicht	57
Tabelle 6: Klinische Untersuchungen des Bestandes durch den SGD in den Phasen I bis III	59
Tabelle 7: Entwicklung wichtiger Parameter der biologischen Herdenleistungen im Sanierungszeitraum	67
Tabelle 8: Entwicklung wichtiger Parameter biologischer Leistung der Jungsauen des Bestandes im Sanierungszeitraum	67
Tabelle 9: Anzahl untersuchter Sauen, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase I	70
Tabelle 10: Anzahl untersuchter Läufer, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase I	70
Tabelle 11: Anzahl untersuchter Sauen, Jungsauen und Eber, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase II	72
Tabelle 12: Anzahl untersuchter Läufer, Anzahl und Anteil serologischer und bakteriologischer Reagenten in der Phase II	72
Tabelle 13: Anzahl untersuchter Sauen, Jungsauen und Eber, Anzahl und Anteil mit der PCR-Methode identifizierter Keimträger in der Phase III	76
Tabelle 14: Beispiele für Trächtigkeitsstadien von Sauen, die bis zum 30. November 2000 als Erregerträger bekannt wurden (alle Belegungen im Jahr 2000)	76
Tabelle 15: Vergleich der Nachweishäufigkeiten von Pmt aus Nasen- und Rachentupferproben mit der PCR-Methode und im Pmt-ELISA	78
Tabelle 16: Anzahl untersuchter Läufer, Anzahl und Anteil mit der PCR-Methode identifizierter Keimträger in der Phase III	79
Tabelle 17: Positive Untersuchungsbefunde und ihre Abklärung in der Phase IV	80

9.3 Programm zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Rhinitis atrophicans, R. a.) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern

1

Auf Grund der §§ 2 und 3 der Beihilfesatzung „Tiergesundheitsdienste“ der Tierseuchenkasse von Mecklenburg-Vorpommern vom 16.02.1998 wird den Zucht- und Ferkelerzeugerbetrieben bei der Bekämpfung der Rhinitis atrophicans / Schnüffelkrankheit (R. a.) Unterstützung / Beihilfe durch den Schweinegesundheitsdienst der Tierseuchenkasse von M-V (SGD) gewährt.

2

Ziel

- (1) Das Ziel besteht in der weitgehenden Schaffung anerkannt R. a. unverdächtiger Bestände in Mecklenburg-Vorpommern.
- (2) Die Anerkennung als R. a. unverdächtiger Bestand wird vom SGD vorgenommen.

3

Durchführung

- (1) Zur R. a.-Tilgung bzw. zur R. a.-Reduzierung werden gemeinsam zwischen dem SGD, den Landwirtschaftsbetrieben und Zuchtorganisationen Maßnahmen festgelegt und durchgeführt.
- (2) Die Teilnahme am Verfahren ist freiwillig.
- (3) Die Zeitdauer der Teilnahme wird auf mindestens drei Jahre festgelegt.
- (4) Mit dem Beitritt zum Verfahren erkennt der Betrieb die Festlegungen des Verfahrens an.

4

Screening-Test / Suchtest

- (1) Die Einstufung und Überwachung der R. a.-Unverdächtigkeit des Bestandes erfolgt mit Hilfe der serologischen Diagnostik durch Bestimmung der neutralisierenden Antikörper gegen das Pasteurella multocida-Toxin.
- (2) Folgender Probenschlüssel wird angewandt:
bis 25 Sauen : alle Sauen
25 - 75 Sauen: 25 Sauen plus 25 % der über 25 vorhandenen Sauen
über 75 Sauen: 40 % aller Sauen, maximal 100 Proben
- (3) Entnahmezeitraum: innerhalb eines Monats.
- (4) Untersuchungsfrequenz: 2x pro Jahr.
- (5) Untersuchungseinrichtung: Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt M-V (LVL).
- (6) Auf dem Probenbegleitschein ist immer die vollständige Anschrift des Tierbesitzers und seine TSK-Nummer anzugeben. Zusätzlich muss auf dem Probenbegleitschein die vorgeschriebene Kennzeichnung des jeweiligen Tieres nach den §§ 19b, c und d der Viehverkehrsordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 29. August 1995 (BGBl. I, S. 1092, 1248) zuletzt geändert durch Artikel 2 der Verordnung vom 25. November 1997 (BGBl. I, S. 2749) aufgeführt sein.
- (7) Die Entnahme und der Versand der Proben haben nach der Richtlinie des LVL vom 01. Januar 1998 zu erfolgen. Für durch Nichtbeachtung der vorgenannten Richtlinie vom Tierbesitzer oder eines von ihm Beauftragten verschuldet verdorbene oder nicht auswertbare Proben erfolgt keine Kostenerstattung.
- (8) Die vorgeschriebenen AK- und / oder KSP-Blutproben müssen zur weiteren Untersuchung auch auf R. a. genutzt werden. Dazu ist als weiterer Untersuchungsgrund „R. a.-Serologie“ auf dem Untersuchungsprotokoll zu vermerken. Es ist ein 3. Durchschlag notwendig. Wenn diese Blutproben nicht ausreichen, sind zusätzliche Blutproben zu entnehmen.

5

Klinische Bestandsuntersuchung

Der SGD untersucht in regelmäßigen Abständen (2-mal pro Jahr) die Schweinebestände auf klinische Symptome der R. a.. Zur Sicherung der Befunde werden zusätzliche Untersuchungen von Nasentupferproben (je nach Bestandsgröße 10 bis 20 Stück) vorgenommen.

6

Einstufung

1. R. a. unverdächtig:
 - (1) Frühestens ein Jahr nach der Erstuntersuchung (Screening plus klinische Bestandsuntersuchung) ist eine Einstufung möglich. Voraussetzung ist, dass alle serologischen Untersuchungen im Screening-Test negativ sind und dass mindestens zwei weitere, im Abstand von mindestens vier, höchstens sechs Monaten durchgeführte Kontrollbesuche keine klinischen Anzeichen ergeben und bei allen ergänzenden Untersuchungen (Tupferproben) keine positiven Befunde erhoben worden sind, die auf das Vorliegen der R. a. im Bestand schließen lassen.
 - (2) Zur Aufrechterhaltung als R. a. unverdächtig Bestand werden jährlich mindestens zwei klinische Bestandsuntersuchungen durchgeführt und der Screening-Test nach dem Probenschlüssel entsprechend 4 (2) beibehalten.
 - (3) Die Einstufung „R. a. unverdächtig“ gilt höchstens für 8 Monate und muss durch den SGD erneuert werden.
2. R. a. verdächtig:
 - (1a) Der Bestand gilt als verdächtig, wenn ein und mehr positive Nachweise (Sau mit positivem Titer) im Screening-Test vorliegen.
 - (1b) Der Verdacht gilt als erloschen, wenn die Nachuntersuchung mittels Nasentupferproben der betreffenden Tiere, einschließlich deren Nachzucht, negativ sind und weitere Blutproben des bzw. der Reagenten und weiterer je nach Bestandsgröße mindestens 10 bis 20 noch nicht untersuchter Tiere (Altsauen und zutretende Jungsauen) nach 3 Wochen negativ sind.
 - (2a) Der Bestand gilt weiterhin als verdächtig, wenn klinische, pathologisch-anatomische oder sonstige Befunde festgestellt worden sind, die für den Befall mit Schnüffelkrankheit sprechen.
 - (2b) Dieser Verdacht gilt als erloschen, wenn bei mindestens zwei klinischen Bestandsuntersuchungen im Abstand von mindestens 2 Monaten in Verbindung mit ergänzenden Nasentupferuntersuchungen keine Hinweise auf Schnüffelkrankheit festgestellt werden konnten.
3. R. a. befallen:
 - (1) Ein Bestand gilt als R. a. befallen, wenn klinische Symptome der Schnüffelkrankheit festgestellt wurden und bei einem Tier des Bestandes durch pathologisch-anatomische Befunde oder andere Untersuchungen R. a. nachgewiesen worden ist.

7

Bekämpfungsverfahren

1. R. a.-Sanierung:

Die R. a.-Sanierung durch Reagentenmerzung - Teilausmerzung des Bestandes auf der Basis von Einzeltieruntersuchungen - ist möglich (bei verdächtigen Beständen mit niedriger Seroprävalenz von 10 plus x %), wenn bestimmte betriebliche Voraussetzungen (überschaubare Bestandsgröße, Möglichkeit zur Unterteilung der Herde und Verminderung der Belegdichte, sowie eine vertrauensvolle Zusammenarbeit zwischen Tierhalter und Tierärzten) gegeben sind.

2. R. a.-Bekämpfung:

Die R. a.-Bekämpfung erfolgt mit bestandsspezifischem Bekämpfungsprogramm als Kombination von Impfung und antibiotischer Behandlung, Reagentenmerzung und Kontrolle des Bekämpfungserfolges durch Einzeltier-Bestandsuntersuchung mittels Nasentupferuntersuchungen. Bei erreichter Minderung des Infektionsdruckes erfolgt dann eine Reduzierung auf "Sauenimpfung" und Nasentupferuntersuchungen mit der Zielstellung, nach Erregerelimination später eine Sanierung zu erreichen.

8

Kostentragung

- (1) Die Kosten für die Serodiagnostik beim LVL werden direkt vom SGD getragen, wenn der Betrieb sich dem freiwilligen Bekämpfungsprogramm angeschlossen hat. Durch Nutzung der vorgeschriebenen KSP-Blutproben werden die für die Entnahme der Blutproben notwendigen Leistungen und entstehenden Kosten reduziert.
- (2) Die Kosten für zusätzliche Probennahmen und Untersuchungen, die in Zusammenarbeit mit dem SGD vorgenommen werden, werden dem Tierbesitzer auf Antrag und nach Vorlage der Originalrechnung, des Zahlungsnachweises sowie der Kopie des Untersuchungsbefundes beim SGD durch diesen erstattet.
- (3) Die Kosten für die Probenentnahme regeln sich nach der gültigen Gebührenordnung für Tierärzte in der Fassung der Bekanntmachung vom 23. Februar 1998 (BGBl. I, S. 191) in Verbindung mit Anlage 1 Kapitel X Abschnitt III Nr. 1 Buchstabe a) Doppelbuchstabe aa) des Einigungsvertrages vom 31. August 1990 (BGBl. I, S. 889).
- (4) Die Kosten für die Untersuchungen der Proben werden dem Tierbesitzer nach den Gebührensätzen der Landesverordnung über Verwaltungsgebühren für das Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt des Landes Mecklenburg-Vorpommern vom 13. Oktober 1992 (GVObI. M-V S. 618) erstattet.
- (5) Die Kosten für die Bestandsuntersuchungen trägt der SGD direkt, wenn er die Bestandsuntersuchungen selbst durchführt, bzw. der SGD erstattet die entstehenden Kosten, wenn die Bestandsuntersuchungen von durch ihn eingewiesene Verbandstierärzte und/oder Bestandstierärzte vorgenommen werden.

Anlage: Verpflichtungserklärung (R. a.)

9.4 Verpflichtungserklärung (R. a.)

_____	_____
Landwirtschaftsbetrieb	Ort
_____	_____
Straße, Hausnummer	Landkreis

Tierseuchenkassennummer	

Ich verpflichte mich, die Bekämpfung der Schnüffelkrankheit / Rhinitis atrophicans (R. a.) in meinem Schweinebestand nach dem *Programm zur freiwilligen Bekämpfung der Rhinitis atrophicans der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern* durchzuführen. Ich verpflichte mich insbesondere:

A. Vorschriften für die Gesunderhaltung aller dem Programm angeschlossener Bestände

1. zur Beteiligung des Betriebes am Verfahren zur Anerkennung von Schweinebeständen als amtlich kontrollierte Bestände mit anerkanntem Hygieneprogramm (Richtlinie Hygieneprogramm Schwein des MLN M-V),
2. den mit der Überwachung des Bestandes betrauten Tierärzten jederzeit Zugang zu den Stallungen zu gewähren und ihnen die Möglichkeit zur Untersuchung und Probenentnahme bei den Schweinen zu geben, sowie ihnen die dabei erforderliche Hilfe zu leisten,
3. keine Behandlung und / oder Impfungen gegen R. a. durchzuführen oder durchführen zu lassen,
4. den SGD unverzüglich von verdächtigen Erscheinungen zu unterrichten und ihm auf Grund von tierärztlichen Untersuchungen außerhalb des Programms erhobene Befunde von Untersuchungen auf R. a. bekanntzugeben,
5. Schweine in Abstimmung mit dem SGD nur aus Beständen zuzukaufen, die nach dem Programm zur Bekämpfung der R. a. in M-V oder einem gleichwertigen Verfahren kontrolliert werden,
6. dafür zu sorgen, dass die Schweine des Bestandes keine Berührungsmöglichkeiten mit Schweinen anderer, nicht R. a. unverdächtig anerkannter Bestände erhalten,
7. Schweine, die aus dem Bestand entfernt worden sind, nicht wieder in den Bestand zu verbringen. Dies gilt nicht für Schweine, die auf Tierschauen oder Auktionen verbracht worden sind, die ausschließlich mit Schweinen aus R. a. unverdächtigen Beständen beschickt worden sind, anschließend einer 28-tägigen Quarantäne unterzogen wurden und denen vor dem Verbringen in den Bestand Nasentupfer- und Blutproben mit negativem Ergebnis entnommen wurden,
8. zugekaufte Schweine nur mit gründlich gereinigten und desinfizierten Fahrzeugen und nicht zusammen mit anderen Schweinen aus nicht R. a. unverdächtig befundenen Beständen, sowie nicht zusammen mit anderen Tierarten zu transportieren.

9.5 Muster einer aktualisierten Befundzusammenstellung

Betrieb /Landkreis	Betriebsleiter Anlagenleiter	Tierarzt Mast 6000 Läufer 4500	Zucht 1200	RA
-----------------------	---------------------------------	--------------------------------------	------------	-----------

Schweinezuchtbetrieb**Mustermann**

Musterstraße XX

XXXXX Musterhausen

/Beispielberg

Tel.: 0YYYYY/YYYYY

Fax: /YYYYY

TSK-Nr.: ZZZZZZZ

Herr Mustermann

Frau Übersicht

Frau Dr. Korrekt

Beispielweg X

XXXXX Beispielberg

Tel.: 0YYYYY/YYYY

mobil: 01YY/YYYYYYYY

Vorbericht: R.a. - Bekämpfung nach M-V-Programm

27. Oktober 2000

Klinische Bestandsuntersuchung, Befund:

1. 02.11.98: keine klinisch verdächtigen Tiere nächster Termin(6.): 04/2001!
2. 22.04.99: dto.
3. 14.10.99: verkürzte Nasen (?), leicht schnupfende Atemgeräusche, Sekretbahnen in Augenwinkeln einzelner Tiere
4. 15.04.00: keine klinisch verdächtigen Tiere
5. 20.10.00: dto.

Befunde/ Diagnostik:**stichprobenweise Bakteriologie:**

Datum	Anzahl, Material	Diagnose	Erreger	Resistenztest
02.11.98	42 Nasentupfer	42x PMT neg.	7x Pm, 3x Ph, 1x Bb ---	
22.04.99	67 „ „ „, u. a. JS-Verkauf	67x PMT neg.	5x Pm, --, 3x Bb ---	
08.07.99	31 „ „ „, Läufer-Verkauf	31x PMT neg.	n. u.	
10.09.99	29 „ „ „, JS-Verkauf	28x PMT neg., 1x pos. (3360 Selektion!)		
14.10.99	64 „ „ „, Umgeb. 3360!	64x PMT neg.	n.u.	
18.02.00	25 „ „ „,	25x PMT neg.	n.u.	
15.04.00	40 „ „ „, einschl. 1454, Sero!	40x PMT neg.	n.u.	
20.10.00	25 Nasen- + Rachent., PCR!	25x PMT neg.		

Serologie

Datum	Anzahl	PMT ELISA:	positiv	fraglich	negativ
14.09.98	30		-	-	30
15.12.98	65 JS-Verkauf		-	-	65
13.03.99	30		-	-	30
12.06.99	30		-	-	30
10.09.99	30		-	1 (3360)	29
14.12.99	58 JS-Verkauf		-	-	58
15.03.00	30		-	1 (1454)	29
22.03.00	1 1454!		-	-	1
12.06.00	30		-	-	30
01.09.00	10 MeLa		-	-	10

Kommentar:

- 01.09.00 Nutzung der Untersuchung von Tieren für die Mecklenburgische Landwirtschaftsausstellung (MeLa) zu einer zusätzlichen Kontrolle
- bisher aufgetretene fragliche (Serologie) und positive (Bakteriologie) Befunde, da Einzelfälle, mit hoher Wahrscheinlichkeit auf unspezifische Reaktionen der diagnostischen Systeme zurückzuführen
- gute Chancen, R. a.-Unverdächtigkeit zu bestätigen, dazu weiter konsequente Untersuchungen notwendig!

9.6 Programm zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Progressive Rhinitis atrophicans, PRa) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern 2001

1

Aufgrund der §§ 2 und 3 der Beihilfesatzung „Tiergesundheitsdienste“ der Tierseuchenkasse von Mecklenburg-Vorpommern vom 16.2.1998 wird den Zucht- und Ferkelerzeugerbetrieben bei der Bekämpfung der Progressiven Rhinitis atrophicans / Schnüffelkrankheit (PRa) Unterstützung / Beihilfe durch den Schweinegesundheitsdienst der Tierseuchenkasse von M-V (SGD) gewährt.

2

Ziel

- (1) Das Ziel besteht in der Schaffung PRa unverdächtiger Bestände, in denen keine toxinogenen Stämme von *Pasteurella multocida* (PMT) nachgewiesen werden.
- (2) Die Anerkennung als PRa unverdächtiger Bestand wird vom SGD vorgenommen.

3

Durchführung

- (1) Zur PRa-Tilgung bzw. zur PRa-Reduzierung werden gemeinsam zwischen dem SGD, den Landwirtschaftsbetrieben und Zuchtorganisationen Maßnahmen festgelegt und durchgeführt.
- (2) Die Teilnahme am Verfahren ist freiwillig.
- (3) Die Zeitdauer der Teilnahme wird auf mindestens drei Jahre festgelegt.
- (4) Mit dem Beitritt zum Verfahren erkennt der Betrieb die Festlegungen des Verfahrens an.

4

Einstufung

- (1) Nach entsprechender Diagnostik (klinisch, bakteriologisch und serologisch) werden die Betriebe folgenden Kategorien zugeordnet:
 1. PRa unverdächtig,
 2. PRa verdächtig,
 3. PRa befallen.

5

PRa unverdächtige Bestände

- (1) Die Einstufung in diese Kategorie setzt voraus, daß im Bestand weder Impfungen, noch routinemäßig antibiotische Behandlungen gegen PMT durchgeführt werden.
- (2) PRa unverdächtige Bestände sind Bestände, in denen mindestens über einen Zeitraum von zwei Jahren in den nachfolgend aufgeführten Untersuchungen (Pkt. 6) keine klinischen Anzeichen auf PRa festgestellt wurden und kein Nachweis toxinogener *Pasteurella multocida* (PMT) erfolgte.
- (3) Die Einstufung als „PRa unverdächtig“ gilt für höchstens 12 Monate.

Untersuchungen

(1) Klinische Bestandsuntersuchungen

Der SGD untersucht je nach Bestandsgröße in regelmäßigen Abständen von 3 - 4 oder 6 Monaten die Schweinebestände auf klinische Symptome der PRA. Die Bestandsuntersuchungen können unangemeldet vorgenommen werden. Ebenso können stichprobenweise Futtermitteluntersuchungen veranlasst werden.

(2) Bakteriologische Untersuchungen

Bei den klinischen Bestandsuntersuchungen werden Rachen- und / oder Nasentupferproben je nach Bestandsgröße entnommen:

Bei Beständen bis 10 Tieren werden alle Tiere beprobt,

bei 10 bis 200 Tieren - 20 Proben,

bei 200 bis 500 Tieren - 36 Proben,

bei > 500 Tieren - 50 Proben.

Die Proben werden von den besonders prädisponierten Altersgruppen entnommen. Mindestens einmal pro Jahr kommt die PCR zur Anwendung. Bei den anderen Kontrollen erfolgt die Untersuchung im PMT- ELISA.

(3) Serologische Untersuchungen

(3.1.) Die vorgeschriebenen, amtlichen AK- und/ oder KSP-Blutproben werden auch zur serologischen Untersuchung auf PMT genutzt. Für Einzelbestände kann der Probenumfang durch den SGD modifiziert werden.

(3.2.) Die serologische Untersuchung erfolgt durch die Bestimmung der neutralisierenden Antikörper gegen das Pasteurella multocida -Toxin (PMT).

(3.3.) Untersuchungseinrichtung: Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt M-V (LVL).

(3.4.) Es ist der „Antrag auf Laboruntersuchung - LVL 30/06 1999“ - zu verwenden. Als weiterer Untersuchungsgrund ist „R.a.-Serologie“ auf dem Untersuchungsprotokoll zu vermerken, als Kostenträger ist „4“ - „TSK- SGD“ einzutragen und bei 21b „ja“ anzukreuzen und mit Unterschrift zu bestätigen, damit die Untersuchungsergebnisse direkt auch dem SGD übermittelt werden.

(3.5.) Auf dem Probenbegleitschein ist immer die vollständige Anschrift des Tierbesitzers und seine TSK-Nummer anzugeben. Zusätzlich muß auf dem Probenbegleitschein die vorgeschriebene Kennzeichnung des jeweiligen Tieres nach den §§ 19b, c und d der Viehverkehrsverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 29. August 1995 (BGB1. I, S. 1092, 1248) zuletzt geändert durch Artikel 2 der Verordnung vom 25. November 1997 (BGB1.I, S. 2749) aufgeführt sein.

(3.6.) Die Entnahme und der Versand der Proben hat nach der Richtlinie des LVL vom 1. Januar 1999 zu erfolgen. Für durch Nichtbeachtung der vorgenannten Richtlinie vom Tierbesitzer oder eines von ihm Beauftragten verschuldet verdorbene oder nicht auswertbare Proben erfolgt keine Kostenerstattung.

PRA verdächtig

(1) Der Bestand gilt als verdächtig, wenn von Einzeltieren bakteriologisch oder serologisch positive Befunde vorliegen, oder Tiere nach der klinischen Untersuchung als verdächtig einzuschätzen sind.

(2) Die Reagenten mit positiven bakteriologischen und / oder serologischen Untersuchungsergebnissen sind zu merzen.

- (3) Ein Verdacht ist mit geeigneten Methoden abzuklären.
- (4) Der Verdacht gilt als erloschen, wenn bei mindestens zwei klinischen Bestandsuntersuchungen im Abstand von mindestens zwei Monaten in Verbindung mit ergänzenden Nasen- und Rachentupfer-Untersuchungen mittels PCR keine Hinweise auf PRA festgestellt wurden.

8

PRA befallen

- (1) Ein Bestand gilt als PRA befallen, wenn klinische Symptome der Schnüffelkrankheit festgestellt wurden und / oder bei mehr als einem Tier des Bestandes bakteriologisch und/oder serologisch Pmt nachgewiesen worden sind.

9

Bekämpfung

- (1) In verdächtigen Betrieben berät der SGD parallel zur Abklärung des Verdachts über Verbesserungen der Hygiene und Möglichkeiten zur Verringerung eines eventuellen Ausbreitungsrisikos.
- (2) In Zusammenarbeit zwischen den Betriebsleitern, den Betreuern und den Betreuungstierärzten PRA befallener Betriebe und dem SGD werden bestandsspezifische Bekämpfungskonzepte zur Verringerung des Infektionsdruckes in der Herde und der Gefährdung nachgeordneter Produktionseinheiten erarbeitet.

10

Kostentragung

- (1) Die Kosten für die Serodiagnostik beim LVL werden direkt vom SGD getragen, wenn der Betrieb sich dem freiwilligen Bekämpfungsprogramm angeschlossen hat. Durch die Nutzung der vorgeschriebenen KSP-Blutproben entstehen für die Entnahme der Blutproben keine Kosten.
- (2) Die Kosten für die klinischen Bestandsuntersuchungen, sowie die dabei vorgenommenen Probenentnahmen und für deren Untersuchungen trägt der SGD direkt, wenn er die Bestandsuntersuchungen selbst durchführt, bzw. der SGD erstattet diese entstehenden Kosten, wenn die Bestandsuntersuchungen und Probenentnahmen von durch ihn eingewiesene Verbandstierärzte oder Bestandstierärzte vorgenommen werden.
- (3) Die Kosten für zusätzliche Untersuchungen, die in Zusammenarbeit mit dem SGD auch im Rahmen von Bekämpfungskonzepten vorgenommen werden, können dem Tierbesitzer auf Antrag und nach Vorlage der Originalrechnung, des Zahlungsnachweises sowie der Kopie des Untersuchungsbefundes beim SGD durch diesen erstattet werden. Die Kosten für die erforderlichen Probenentnahmen können je nach Haushaltslage vom SGD erstattet werden.
- (4) Die erstattungsfähigen Kosten für die Probenentnahmen regeln sich nach der gültigen Gebührenordnung für Tierärzte vom 28. Juli 1999 (BGB1. 1, S. 1691) bzw. nach der Beihilfesatzung Tiergesundheitsdienste der Tierseuchenkasse von M-V.
- (5) Die Kosten für die Untersuchungen der Proben werden dem Tierbesitzer nach der Veterinärverwaltungs-kostenverordnung vom 23. September 1999 (GVOB1. M-V, S. 507) in der jeweils geltenden Fassung erstattet, bzw. nach den Kalkulationen der Untersuchungsinstitute.

Anlage: Verpflichtungserklärung (PRA)

9.7 Verpflichtungserklärung (PRa)

_____	_____
Landwirtschaftsbetrieb	Ort
_____	_____
Straße, Hausnummer	Landkreis

Tierseuchenkassennummer	

Ich verpflichte mich, die Bekämpfung der Schnüffelkrankheit / Progressive Rhinitis atrophicans (PRa) in meinem Schweinebestand nach dem *Programm zur freiwilligen Bekämpfung der Rhinitis atrophicans der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern 2001* durchzuführen. Ich verpflichte mich insbesondere:

A. Vorschriften für die Gesunderhaltung aller dem Programm angeschlossener Bestände

1. zur Beteiligung des Betriebes am Verfahren zur Anerkennung von Schweinebeständen als amtlich kontrollierte Bestände mit anerkanntem Hygieneprogramm (Richtlinie Hygieneprogramm Schwein des MLN M-V),
2. den mit der Überwachung des Bestandes betrauten Tierärzten jederzeit Zugang zu den Stallungen zu gewähren und ihnen die Möglichkeit zur Untersuchung und Probenentnahme bei den Schweinen zu geben, sowie ihnen die dabei erforderliche Hilfe zu leisten,
3. keine Behandlung und / oder Impfungen gegen PRa durchzuführen oder durchführen zu lassen,
4. den SGD unverzüglich von verdächtigen Erscheinungen zu unterrichten und ihm auf Grund von tierärztlichen Untersuchungen außerhalb des Programms erhobene Befunde von Untersuchungen auf PRa bekanntzugeben,
5. Schweine in Abstimmung mit dem SGD nur aus Beständen zuzukaufen, die nach dem Programm zur Bekämpfung der PRa in M-V oder einem gleichwertigen Verfahren kontrolliert werden,
6. dafür zu sorgen, dass die Schweine des Bestandes keine Berührungsmöglichkeiten mit Schweinen anderer, nicht PRa unverdächtig anerkannter Bestände erhalten,
7. Schweine, die aus dem Bestand entfernt worden sind, nicht wieder in den Bestand zu verbringen. Dies gilt nicht für Schweine, die auf Tierschauen oder Auktionen verbracht worden sind, die ausschließlich mit Schweinen aus PRa unverdächtigen Beständen beschickt worden sind, anschließend einer 28-tägigen Quarantäne unterzogen wurden und denen vor dem Verbringen in den Bestand Nasentupfer- und Blutproben mit negativem Ergebnis entnommen wurden,
8. zugekaufte Schweine nur in gründlich gereinigten und desinfizierten Fahrzeugen und nicht zusammen mit anderen Schweinen aus nicht PRa unverdächtig befundenen Beständen, sowie nicht zusammen mit anderen Tierarten zu transportieren.

9.8 Muster einer Bestätigung der PRa-Unverdächtigkeit

Schweinezucht
Mustermann

Musterweg XX

XXXXXX Musterhausen



Schweinegesundheitsdienst
der
Tierseuchenkasse von
Mecklenburg-Vorpommern
Anstalt des öffentlichen Rechts

Berater:

Dr. E. Rathmann
Tel.: 0172/8133666

DVM B. Thom
Tel.: 0173/6190063

DVM K.-H. Schulz
Tel.: 0170/7350244

Postanschrift:

Behördenzentrum
PF 11 01 63

17041 Neubrandenburg

Tel.: 0395/3805808
Fax: /3805814

Bescheinigung

*gemäß dem Programm zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern
vom Juli 1998, in der Fassung vom Januar 2001*

Der Landwirtschaftsbetrieb **Schweinezucht Mustermann, Musterweg XX in XXXXX Musterhausen**, Landkreis Beispielberg, beteiligt sich seit dem November 1998 mit seiner Läuferproduktionsanlage freiwillig am Programm des Schweinegesundheitsdienstes der Tierseuchenkasse Mecklenburg-Vorpommerns zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Progressive Rhinitis atrophicans, PRa) der Schweine in unserem Land.

In Auswertung der bisherigen Untersuchungen im Rahmen dieses Programms wird dem Schweinebestand des Betriebes mit dem 01. Oktober 2001 der Status

„PRa unverdächtiger Bestand“

zuerkannt.

Wie im genannten Programm vorgesehen, wird dieser Status auch künftig regelmäßig kontrolliert und überwacht. Bei jeweiliger Bestätigung der Voraussetzungen dieser Bescheinigung gilt sie bis zum 01. Oktober 2002.

9.9 Grundrisse der einzelnen Ställe der Zucht- und der Mastanlage

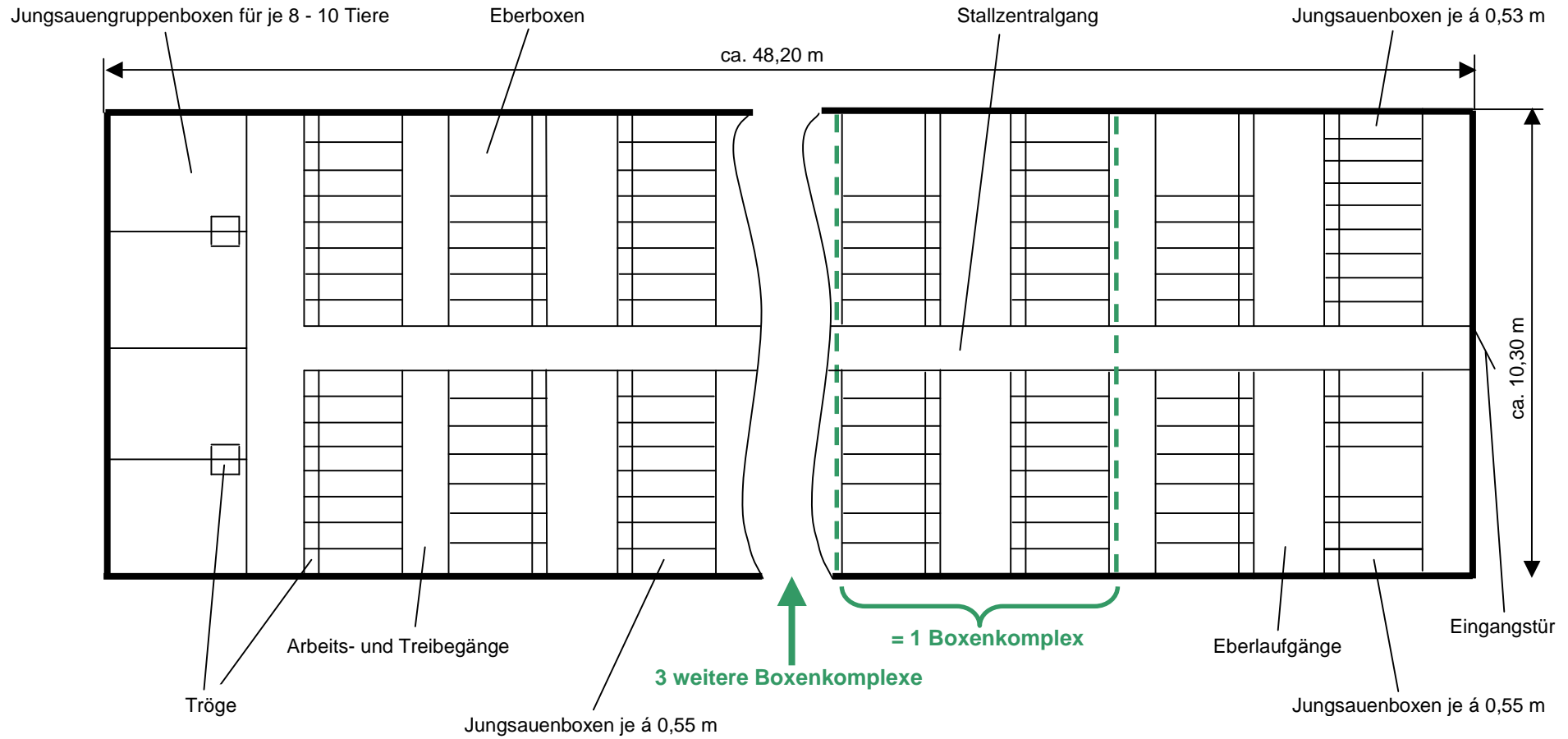


Abb. 15: Grundriss des Belegstalls (Skizze im Maßstab ca. 1 : 140)

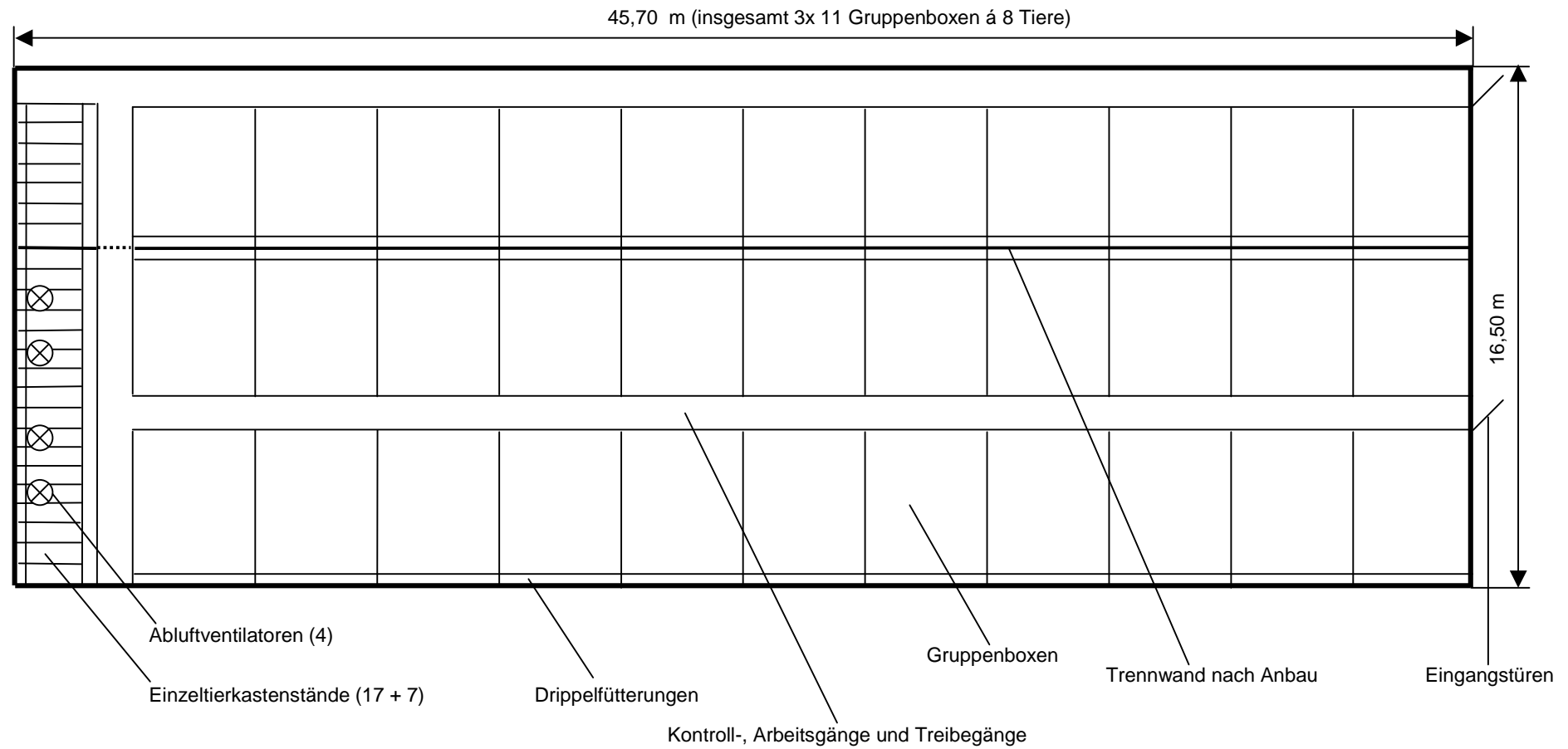


Abb. 16: Grundriss des Wartestalls (Skizze im Maßstab ca. 1 : 200)



Abb. 17: Grundriss des Abferkel- und Läuferaufzuchtstalls (Skizze im Maßstab ca. 1 : 230)

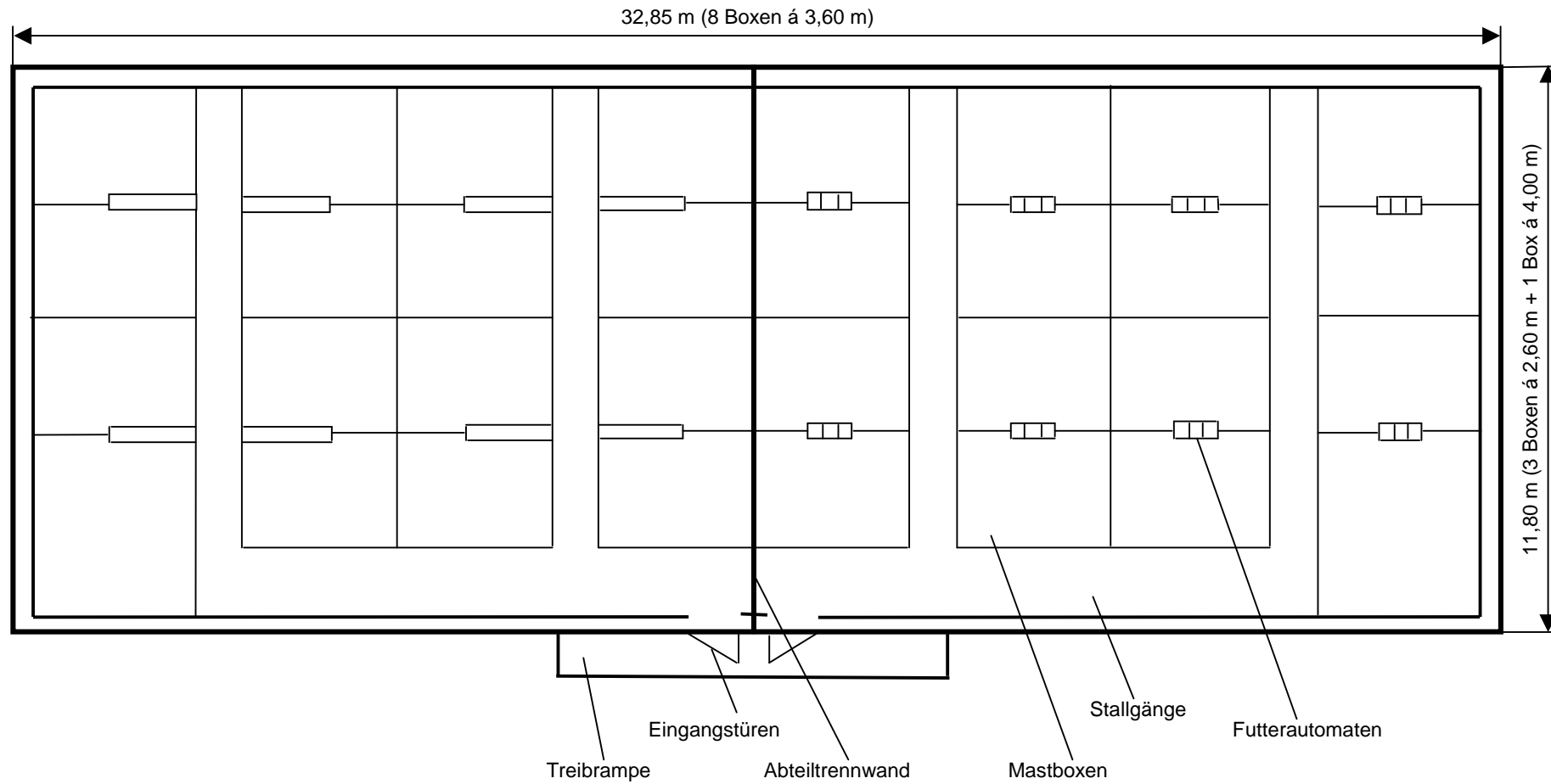


Abb. 18: Grundriss des Zuchtläuferaufzucht-, Jungsau- und Selektionsstalls (Skizze im Maßstab ca. 1 : 150)

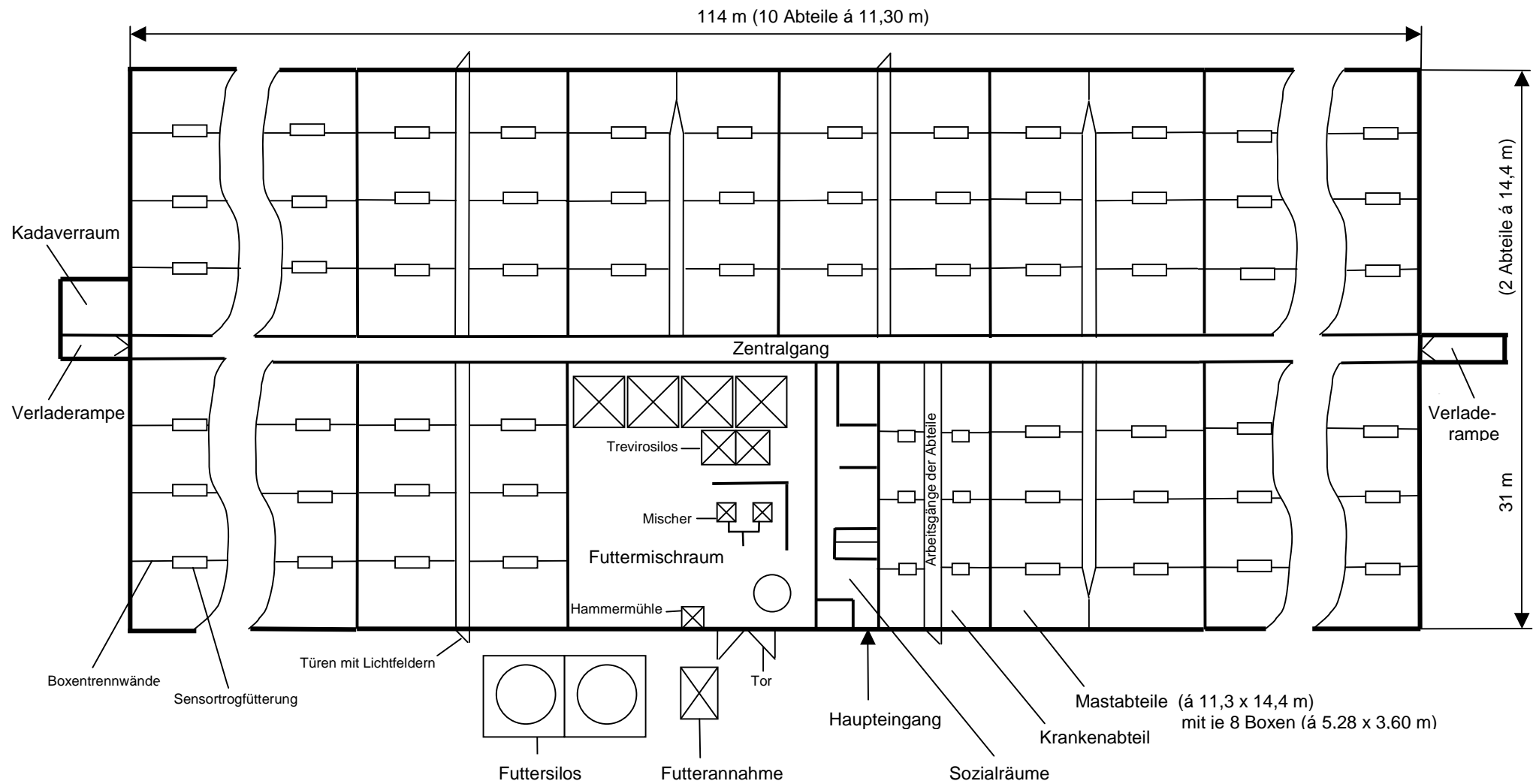


Abb. 19: Grundriss des Maststalls des Betriebes (Skizze im Maßstab ca. 1 : 300)

Danksagung

Die Idee und der Mut zum Beginn eines Versuches der Sanierung eines Schweinezuchtbestandes allein durch die Selektion potenzieller und nachgewiesener Keimträger gingen, wie auch die Erarbeitung und Initialisierung des „Programms zur Bekämpfung der Schnüffelkrankheit (Rhinitis atrophicans) der Schweine in Mecklenburg-Vorpommern“ von der Weitsicht und dem Engagement Herrn Dr. Rathmanns aus. Dafür, für die Überlassung des Themas und auch für die bereitwillige Übernahme aller dienstlichen Obliegenheiten während der Gestaltungsphase dieser Arbeit gebührt ihm mein erster und besonders herzlicher Dank.

Die Mitarbeiter(innen) des GGAB Groß Grenzer Agrarbetriebes, der Betriebsleiter Herr Tschirner, der Anlagenleiter Herr Wessely, Frau Woitke, Herr Staat, Herr Bünger, Frau Nimke, Frau Bruck u. a. glaubten trotz auftretender Schwierigkeiten über die gesamte Versuchsdauer an die Realisierbarkeit des verfolgten Zieles und setzten sich mit Elan für eine korrekte Umsetzung der gefassten Beschlüsse ein. Ohne ihre tägliche Konsequenz wäre der erreichte Erfolg undenkbar gewesen.

Für seine engagierte und exakte, nicht immer körperlich leichte und angenehme Arbeit, die die entscheidenden Anteile der diagnostischen Probenentnahmen beinhaltete, sei an dieser Stelle Herrn Dr. habil. Zepperitz und auch seiner Mitarbeiterin Frau Meyer ganz besonders gedankt.

Auch Mitarbeiter(innen) der Abteilungen Bakteriologie und Serologie des LVL M-V in Rostock wirkten durch ihre qualifizierte Durchführung der diagnostischen Untersuchungen in mehreren Phasen am hier vorgestellten Projekt maßgeblich mit.

In der DNA-Diagnostik Nord GmbH Rostock-Warnemünde habe ich Frau Dr. Witt, Frau Dr. Thamm, Frau Dr. Krause, Frau Weicker und Frau Fiedler für die Durchführung der bakteriologischen Untersuchungen in der PCR, die jederzeit schnelle und zuverlässige Bearbeitung und Ergebnisübermittlung zu danken.

Ein besonderer Dank gebührt auch Frau Professor Dr. Krüger für die Unterstützung bei der Konzeption der Arbeit, ihre jederzeit gewährte Hilfe bei der Ausarbeitung und Gestaltung, ihre fachliche Beratung und kritische Bewertung.

Durch die Demonstration der Entnahmetechnik der Rachentupferproben und die Erläuterungen der PCR-Methode, seine aus jahrzehntelanger Erfahrung resultierenden kritischen und kompetenten Hinweise und seine fachkundigen Hilfestellungen trug Herr Dr. Marten de Jong vom Tiergesundheitsdienst in Deventer / Niederlande zum Gelingen unseres Versuches bei, wofür ich auch ihm herzlich danke.

Meinen Kolleg(inn)en bei der Tierseuchenkasse Mecklenburg-Vorpommern entlasteten mich spürbar von Dienstaufgaben, halfen mir mit Ansporn und Ratschlägen und unterstützten mich mit bei der Korrektur und der Bewältigung von Tücken der Schreibtechnik.

Meinen Eltern und Geschwistern danke ich ganz herzlich für ihr Verständnis, ihre Rücksicht und all die gewährte persönliche Hilfe.